

Р. Ватнер, Т. Митчелл

ГЕНЕТИКА
И ОБМЕН
ВЕЩЕСТВ

И * Л

Издательство
иностранной
литературы

*

GENETICS AND METABOLISM

ROBERT P. WAGNER

Department of Zoology, The University of Texas

HERSCHEL K. MITCHELL

Division of Biology, California Institute of Technology

1955

JOHN WILEY & SONS, INC., NEW YORK

CHAPMAN & HALL, LIMITED, LONDON

Р. ВАГНЕР и Г. МИТЧЕЛЛ

ГЕНЕТИКА И ОБМЕН ВЕЩЕСТВ

Перевод с английского

Э. А. АБЕЛЕВОЙ, М. Л. БЕЛЬГОВСКОГО,
Б. Н. СИДОРОВА и В. В. ХВОСТОВОЙ

Предисловие

проф. А. В. БЛАГОВЕЩЕНСКОГО

ИЗДАТЕЛЬСТВО
ИНОСТРАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Москва — 1958

Книга посвящена одному из наиболее актуальных вопросов современной биологии — проблеме биохимических основ наследственности. В ней собран большой экспериментальный материал, характеризующий особенности химического строения и обмена веществ ядра и его компонентов в связи с явлениями наследственности и возникновением мутаций.

Предназначена для биологов всех специальностей.

Редакция биологической литературы.
Заведующий — проф. А. А. НИЧИПОРОВИЧ.

К. А.
(1913 г.)
несенной
Наш за
дарвини
мендели
рые бер
мощью
ных пр
К. А. Ти
формаль
чества и
признак
столкно
янской
лось, ка
вращать
к данны
вий обр
хромоге
В пос
формаль
неуклон
приветст
дования
наследов
сти насл
условий
леиновых
формаль
многие т
вится со

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие к русскому изданию	5
Предисловие авторов	9
Глава I. Введение в понятие гена	11
Механизм митоза	12
Механизм мейоза	12
Менделизм	16
Сцепление и перекрест	20
Перекомбинации вообще	21
Некоторые определения и символы	23
Полиплоидия	23
Гены и аллели генов	24
Символы	24
Концепция гена	25
Жизненный цикл	25
Некоторые литературные источники общего характера	29
Глава II. Некоторые данные о структуре и функции клетки	31
Общие свойства клеток	31
Ядро	34
Химический состав ядра в целом	35
Химический состав компонентов ядра	40
Химические изменения в период ядерного цикла	42
Цитоплазма и ядро	43
Глава III. Мутации	46
Определение мутации	46
Обнаружение мутаций	47
Типы мутаций	48
Генные и хромосомные мутации	51
Частота мутаций	52
Мутации и фактор времени	53
Спонтанные мутации	55
Генетические факторы, влияющие на частоту спонтанных мутаций ...	56
Физические и химические факторы, влияющие на частоту мутаций ...	59
Температура	59

Излучения	61
Гипотеза мишени	67
Химические мутагены	70
Влияние внешних факторов на действие мутагенов	73
Трансформация у бактерий	76
Общие соображения о природе мутаций и генетического материала ...	78
Глава IV. Наследственные химические различия	82
Антоцианы и антоксантины у растений	83
Химия	83
Наследование	85
Каротиноиды и их производные в растениях	93
Вещества, присутствующие в эндосперме кукурузы	97
Белки и другие вещества с антигенными свойствами	99
Общие выводы относительно влияния мутаций и числа определенных генов на химический состав организма	105
Глава V. Наследование потребностей в питательных веществах	107
Методы получения и выявления мутантов с измененным питанием ...	108
Типы мутантов с измененным питанием	113
Общие замечания	120
Глава VI. Некоторые проблемы биохимии	121
Скорости реакций	122
Некоторые свойства ферментов	122
Определение скоростей реакций	124
Подавление действия ферментов и ингибиторы	129
Кинетика подавления	130
Ферментативные комплексы	132
Динамическое состояние	137
Проницаемость мембран	138
Метаболический фонд	139
Кругооборот веществ в клеточном ядре	140
Биохимические реакции	143
Энергетика биохимических реакций	144
Сопряженные реакции	145
Синтезы макроэргических фосфатных связей	148
О природе биохимических реакций	150
Глава VII. Мутации и факторы, контролирующие обмен веществ	155
Макромолекулы	157
Изменчивость видовых макромолекул	160
Биологический синтез макромолекул	163
Мутации и отдельные ферменты	169
Ферментативное расщепление гомогентизиновой кислоты у человека	172
Некоторые алкалоидные эстеразы в животных тканях	173
Синтез триптофана у <i>Neurospora</i>	175

Линамаказы у белого клевера	179
Синтез пантотеновой кислоты	180
Выделение мочевой кислоты у далматской собаки	183
Идиопатическая метгемоглобинемия у человека	186
Активность каталазы у высших растений	187
Флавопротеин и резистентность к ядам у пневмококков	188
Бродильные ферменты	191
Некоторые общие выводы	195
Глава VIII. Пути обмена веществ	197
Аминокислоты	202
Ароматические аминокислоты и родственные им соединения	202
Серные аминокислоты и треонин	205
Гистидин	206
Аргинин и пролин	209
Лизин	210
Лейцин, изолейцин и валин	212
Разные аминокислоты	213
Нуклеиновые кислоты	214
Пурины нуклеиновых кислот	214
Пиримидины нуклеиновых кислот	216
Липиды и пигменты	217
Жирные кислоты	217
Каротиноиды	218
Порфирины	218
Витамины группы В	220
Глазной пигмент насекомых	221
Бурый пигмент у <i>Drosophila melanogaster</i>	224
Гомологии с другими видами насекомых	225
Генетическое блокирование	230
Некоторые общие выводы	232
Глава IX. Аллелизм, взаимодействие аллелей и псевдоаллелизм	233
Фенотипический эффект замены одного аллеля	241
Доминирование	244
Изоаллели	247
Псевдоаллелизм	256
Пересмотр некоторых определений	259
Глава X. Взаимодействие неаллельных генов	262
Признаки, обусловленные двумя генами	262
Дополнительные (комплементарные) гены	264
Дубликатные гены	266
Гены-супрессоры	271
О модификаторах вообще	276
Группы взаимодействующих генов, оказывающих сильное влияние на определенные признаки	280
Различия в меланиновых пигментах у морских свинок	285
Генный баланс	290
Модификаторы проявления аллелей и взаимодействия	

Глава XI. Изменения фенотипа под влиянием внешних факторов	293
Превращение «нормального» фенотипа в «мутантный»	293
Аллели, «чувствительные» к температуре	295
Трансформация серотипов у <i>Paramecium aurelia</i>	299
Период чувствительности к температуре	302
Генотип, как норма реакции	305
Наследственная и ненаследственная адаптации и методы их различения	306
Ферментативная адаптация	309
Выводы	313
Глава XII. Преемственность клеточной организации	314
Субъединицы клетки и их преемственность	314
Удвоение генов	317
Удвоение компонентов цитоплазмы	318
Критерии доказательства генетической преемственности частиц или субъединиц	321
Внехромосомная наследственность	323
Примеры цитоплазматической наследственности	324
О механизме внехромосомного наследования	333
Индукция признаков, наследуемых через цитоплазму	342
Глава XIII. Проблема механизма развития	344
Некоторые стороны развития	345
Проявления дифференцировки	345
Свойства ядер во время развития	350
Установление различий на ранних стадиях развития	352
Химические явления, сопровождающие морфологические изменения или предшествующие им	361
Влияние одной части на другую	365
Организация и рост	373
Роль генотипа	378
Влияние генных мутаций на развитие	379
Трансплантации между животными с разными генотипами	383
Глава XIV. Генетика, развитие, питание и заболевание	387
Наследственные аномалии	388
Некоторые летальные мутанты дрозофилы	390
Некоторые наследственные аномалии у мышей	391
Наследственные аномалии человека	394
Наследственность и питание	398
Симбиоз и неспособность к совместному существованию	399
Бактериальные вирусы	400
Генетические факторы и инфекция у высших организмов	403
Некоторые общие соображения	406
Литература	408

ПРЕДИСЛОВИЕ К РУССКОМУ ИЗДАНИЮ

К. А. Тимирязев в своей известной статье «Отбой мендельянцев» (1913 г.) остановился на речи английского генетика Кибла, произнесенной незадолго до того на собрании британской ассоциации. Наш замечательный исследователь-физиолог и последовательный дарвинист неоднократно высказывался и раньше в том смысле, что менделизм сам по себе не в состоянии разрешить тех задач, за которые берется, и в конце концов будет вынужден обратиться за помощью к физиологии и химии. В речи Кибла — одного из типичных представителей формальной генетики начала столетия — К. А. Тимирязев с удовлетворением отметил «отбой», отход от чисто формальных построений, от жонглирования цифрами и словотворчества и первые попытки связать явления наследственной передачи признаков с данными физиологии и химии. «Отбой» был дан при столкновении с фактами, «не укладывающимися в рамки мендельянской схемы», когда при изучении одной садовой примулы оказалось, как писал К. А. Тимирязев, что «рецессивная белая может превращаться в доминантную». Для объяснения пришлось прибегнуть к данным изучения растительных пигментов, их химизма и условий образования. Выяснилась роль окислительных ферментов, хромогенов и ингибиторов.

В последующие годы, несмотря на, казалось бы, победное шествие формальной генетики, достигшей своего апогея в школе Моргана, неуклонно продолжало развиваться и новое течение, которое так приветствовал К. А. Тимирязев. Появились превосходные исследования Уэлделл-Онслоу, Холдэна, Скотт-Монкрайф. От изучения наследования пигментов исследователи перешли к работам в области наследования ряда физиологических процессов, к выяснению условий различных синтезов, к энергетике последних, к роли нуклеиновых кислот, которые все чаще стали сопоставлять с генами формальных генетиков. В наши дни генетика, хотя и применяет многие термины старой моргановской генетики, по существу становится совершенно иной наукой, причем нередко это происходит

вопреки желаниям многих ее представителей, упорно не замечающих, что старые формы не годятся для нового содержания.

Книга Вагнера и Митчелла «Генетика и обмен веществ» названа так не случайно: авторы ее глубоко убеждены в том, что только полное знание биохимии клетки позволит познать каталитическое действие генов, обладающих свойствами авто- и гетерокатализаторов. Поэтому формальная сторона генетики в книге часто отходит на второй план и первое место занимают процессы обмена веществ внутри клетки.

В книге изложены прежде всего основные понятия генетики, общепринятые в современной науке, но мало распространенные у нас. Можно их принимать или отвергать, но знать, конечно, необходимо, так как без такого знания вся зарубежная генетическая литература останется для советских читателей книгой за семью печатями. Затем дается очерк строения и функций клетки. Разбирая взаимоотношения между ядром и цитоплазмой, авторы настаивают на том, что эти основные части клетки отнюдь не являются независимыми системами и что живая клетка должна обладать и ядром и цитоплазмой, чтобы жить и воспроизводить себя. Никакого примата ядра в наследовании не существует. Просто ядро лучше изучено, так как в течение ряда лет на него обращали преимущественное внимание.

В дальнейшем изложении Вагнер и Митчелл подробно останавливаются на мутациях или наследственных изменениях, не связанных с расщеплением или рекомбинациями неизмененного генетически материала. Авторы подчеркивают, что способность мутировать — такое же важное, основное свойство генетического материала, как и его стабильность. С этим положением, конечно, нельзя не согласиться. Авторы подвергают анализу ряд факторов, оказывающих влияние на частоту мутаций (температура, облучение, химические воздействия), и приходят к выводу, что и спонтанные мутации индуцируются собственными метаболитами клетки.

Содержание остальных глав посвящено наследуемым химическим различиям, анализу ряда биохимических процессов и наследованию этих процессов. Эти главы содержат богатый материал, мало знакомый советским биологам. Столь же интересные факты собраны и во второй половине книги, посвященной модификациям фенотипа, обусловленным действием окружающих условий, непрерывности клеточной организации, роли цитоплазматической наследственности, механике развития, наследственным аномалиям у человека, бактериальным вирусам.

Несмотря на большой фактический материал книги, авторы в заключение своего изложения пишут, что до сих пор вопрос о том, каким образом гены контролируют метаболизм, окончательно не решен; однако они выражают твердую уверенность, что такое решение будет достигнуто и что для этого существуют разные пути, в частности — изучение факторов, определяющих скорость реакций в живом организме.

Перевод книги Вагнера и Митчелла, добросовестно изложивших большой фактический материал современной генетики, показывающий глубокую связь между генетикой и физиологией обмена веществ, безусловно, полезен. Нет никакого сомнения, что эта книга поможет не только генетикам, но и всем советским биологам составить ясное представление о задачах и достижениях современной генетики.

А. Благовещенский.

„... наследственность — это повторение в последовательных поколениях одинаковых форм обмена”.

Е. Вильсон, 1896

ПРЕДИСЛОВИЕ АВТОРОВ

Цель настоящей книги — собрать воедино разнообразные факты и понятия, полученные в области биохимии и генетики, а также, в меньшей степени, — физиологии, цитологии и эмбриологии и попытаться создать общую картину биохимической основы наследственности. Мы исходим из того, что характерная особенность наследственности заключается в передаче последующему поколению контроля над относительными скоростями биохимических реакций в пределах сложной и взаимосвязанной картины обмена. Эта точка зрения не нова, так как она была предвосхищена теоретическими и экспериментальными исследованиями ряда авторов. Но даже в настоящее время, несмотря на то, что накоплено достаточное количество соответствующих экспериментальных данных, нам не удалось в этой книге подвести объективную, подтвержденную достаточным количеством фактов основу под этот тезис, что видно уже из заглавия. Книга названа «Генетика и обмен веществ», хотя она могла бы иметь более многозначительное название, которое говорило бы о том, что обсуждаемый в ней материал уже в достаточной степени интегрирован и его можно обозначить одним словом. По нашему мнению, подобная полная интеграция еще не достигнута и в настоящее время на основании имеющихся данных даже и не может быть достигнута. Можно показать, что существует ряд весьма интересных взаимоотношений, но, чтобы решить, действительно ли они имеют большое значение или нас привели к неправильным выводам ложные связи, необходимо получить больше фактических данных. Несмотря на это, мы думаем, что достижения науки настолько велики, что пришло время собрать воедино данные, имеющие непосредственное отношение к обсуждаемой проблеме.

Эта книга была написана в основном для студентов старших курсов и для начинающих научных работников, изучающих генетику, биохимию и микробиологию. Предполагается, что они имеют элементарные знания по биологии, генетике и биохимии. Однако, чтобы сделать содержание книги доступным большему кругу лиц, в первой главе кратко изложены элементарные сведения по гене-

тике, а там, где это нужно, — элементарные данные по общей биологии и биохимии.

Хотя многие из описанных здесь фактов уже обсуждались в курсах генетики и биохимии, однако в основном в этой книге изложен материал иного характера, чем тот, которому уделяется главное внимание в курсах этих дисциплин. Кроме того, в указанных курсах эти факты обычно не излагаются в такой связи, чтобы стали ясны взаимоотношения между ними. Поэтому мы считаем, что содержащийся в данной книге материал не повторяет изложения других учебников.

Рассмотренные в этой книге общие принципы, а также новые данные, полученные в этой области, излагались студентам биологам и биохимикам старших курсов одним из авторов в Техасском университете в течение последних семи лет. Реакция студентов показала нам, что этот материал дает творческую поддержку людям, желающим посвятить свою жизнь изучению явлений жизни.

*Р. Вагнер,
Г. Митчелл.*

Глава I

ВВЕДЕНИЕ В ПОНЯТИЕ ГЕНА

Настоящая книга посвящена в основном обсуждению функции генов или эффектов их действия, а не закономерностям их наследования. Тем не менее вначале необходимо уяснить себе точное значение термина «ген», а также выяснить, каким образом существование генов обосновывается экспериментальными данными. А это требует знания механизма менделевских закономерностей наследования и других явлений, связанных с половым размножением, так как современная концепция гена возникла на основе изучения указанных выше явлений.

Концепцию гена, пожалуй, лучше всего осветить, если привести наиболее важные его определения. Первое определение термина «ген», данное в 1911 г. Иогансеном [317], который впервые ввел этот термин, было ясным и простым: «Ген — это просто короткое и удобное слово, которое легко сочетается с другими, и поэтому оно может быть полезным для обозначения имеющихся в гаметах «единичных факторов», «элементов» или «аллеломорфов», наличие которых показано современными исследованиями менделевских закономерностей».

В термине, введенном Иогансеном, генетика испытывала нужду с момента своего возникновения. Он дал генетикам слово, при помощи которого они получили возможность отделить причину, т. е. наследственную обусловленность и способность к развитию определенных признаков, от получаемых эффектов — самих признаков. Из термина «ген» возникло слово генотип, обозначающее весь набор генов в оплодотворенном яйце и, следовательно, его способность к развитию определенных признаков [317]. Чтобы дать определение конечного результата — совокупности признаков организма, развивающихся в результате действия генов, — был введен термин «фенотип».

В то время когда Иогансен ввел термин «ген», в области генетики было еще очень мало данных, не считая известных менделевских отношений, наблюдаемых при скрещивании некоторых особей. О наличии гена узнавали в то время, так же как и сейчас, лишь в том случае, если он проявлялся в двух формах или аллелях (сокращение выходящего из употребления слова аллеломорф), которые оказывают различное влияние на фенотип. Существование гена как

физической единицы в то время признавали лишь немногие генетики, и Иогансен не был в их числе. Доказательство физического существования гена было получено, когда Морган, Стертевант, Меллер и Бриджес [440] твердо установили, что менделевские единицы, названные Иогансеном генами, тесно связаны с видимыми ядерными структурами, которые были известны цитологам XIX в. под названием хромосом. Тогда стало возможным представление о генах как о наследуемых физических единицах, действие которых выражается в том, что они регулируют или определяют процессы развития, создающие фенотип. Указанные выше исследователи не только показали, что гены локализованы в хромосомах, но также и то, что они располагаются в хромосомах в линейном порядке. После того как Пэйнтером [468] было открыто значение гигантских хромосом слюнных желез дрозофилы, удалось идентифицировать участки хромосом со специфическими генами и окончательно доказать, что каждый ген занимает определенный локус внутри хромосомы.

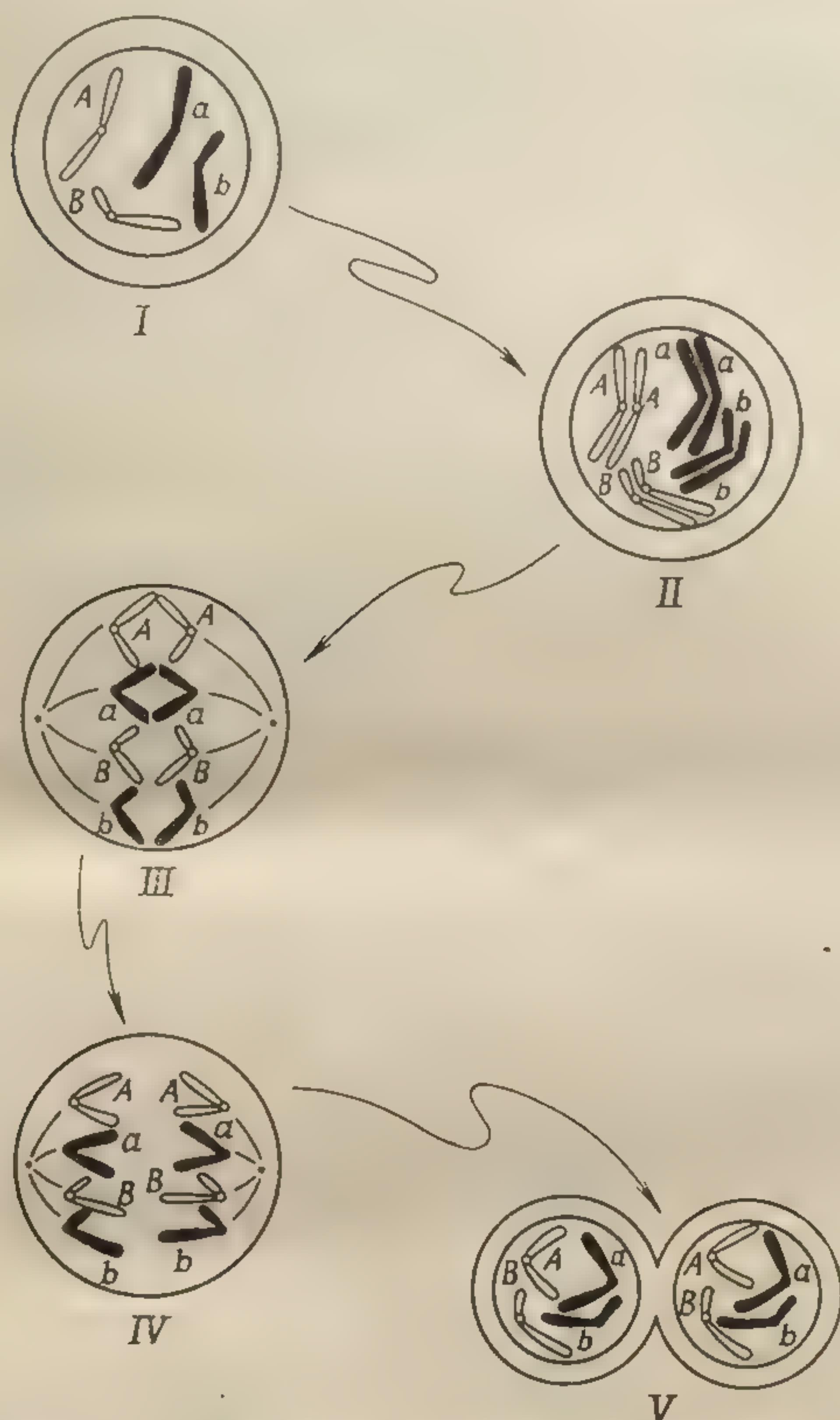
МЕХАНИЗМ МИТОЗА

Для понимания генетики очень важно оценить значение основных механизмов деления клеток организма. Описание этих процессов — митоза и мейоза — излагается ниже и, по мнению автора, достаточно подробно, чтобы неподготовленный читатель получил достаточные сведения для понимания основ концепции гена.

Митоз — это тип клеточного деления, при котором из одной клетки возникают две дочерние, содержащие то же самое число таких же хромосом, которые имелись в материнской клетке. Этот процесс схематично представлен на фиг. 1. Главные особенности этого процесса следующие: 1) каждая из хромосом ядра во время деления удваивается очень точно (поскольку можно судить на основании генетических методов); 2) получившиеся при удвоении элементы расходятся к противоположным полюсам делящейся клетки; 3) распределение материала хромосом между двумя дочерними клетками происходит точно равномерно, поскольку действует тонкий механизм, обеспечивающий их равномерное распределение. Это отнюдь не относится к цитоплазме, которая является более гомогенной, чем ядро, и где, по-видимому, не имеется соответствующего механизма для равномерного распределения. Вопрос о распределении цитоплазматического материала клетки здесь не имеет особого значения и будет рассмотрен более подробно в гл. XII в связи с обсуждением цитоплазматической наследственности.

МЕХАНИЗМ МЕЙОЗА

Высшие организмы большей частью являются диплоидными ($2n$), т. е. имеют два гомологичных набора хромосом в каждой из клеток. Этот факт был установлен как на основе цитологических, так и генетических данных. На основании цитологических наблю-



Фиг. 1. Схема митоза. Основные стадии митоза в клетке, содержащей четыре хромосомы.

I — ранняя профаза (в ядре видны хромосомы); *II* — поздняя профаза, ранняя метафаза (хромосомы удвоились); *III* — ранняя анафаза (удвоившиеся элементы расходятся); *IV* — поздняя анафаза; *V* — телофаза и конец митоза (делится цитоплазма).

дений можно проследить, что при формировании гамет у диплоидного организма дающие им начало клетки претерпевают два последовательных деления, в результате которых число хромосом уменьшается вдвое и образуются гаметы с гаплоидным набором хромосом ($1n$). Эти два последовательных деления, дающие гаплоидные клетки, носят название мейоза. Если описывается процесс у животного определенного пола, то часто мейоз, при котором образуются спермии,

называют сперматогенезом, а процесс, в результате которого образуются яйцеклетки — овогенезом. У семенных растений образование гаплоидных клеток, дающих затем начало ядрам спермия в пыльцевом зерне, называется микроспорогенезом, а процесс, приводящий к образованию женских гаплоидных клеток, — макро- или мегаспорогенезом.

На фиг. 2 представлена схема мейоза у организма, диплоидный набор хромосом которого равен 4 ($2n=4$). Следует отметить, что хромосомы конъюгируют на первой стадии первого деления (профаза I), давая таким образом в данном случае два комплекса из двух хромосом каждый. Хромосомы, которые конъюгируют (или, иначе, наблюдается их синапсис), называют гомологичными, поскольку было показано, что они несут идентичные наборы генов, а также сходны между собой морфологически. Необходимо подчеркнуть, что единственный способ окончательно доказать гомологию двух хромосом — это проследить их конъюгацию в мейозе. Для генетики важно, что хромосомы сходны по внешнему виду, а главное по содержащимся в них генам, но, как будет показано ниже, цитологическое доказательство гомологии хромосом у диплоида основывается скорее на их конъюгации, чем на генетических взаимоотношениях, которые часто выходят за пределы компетенции чисто морфологической цитологии.

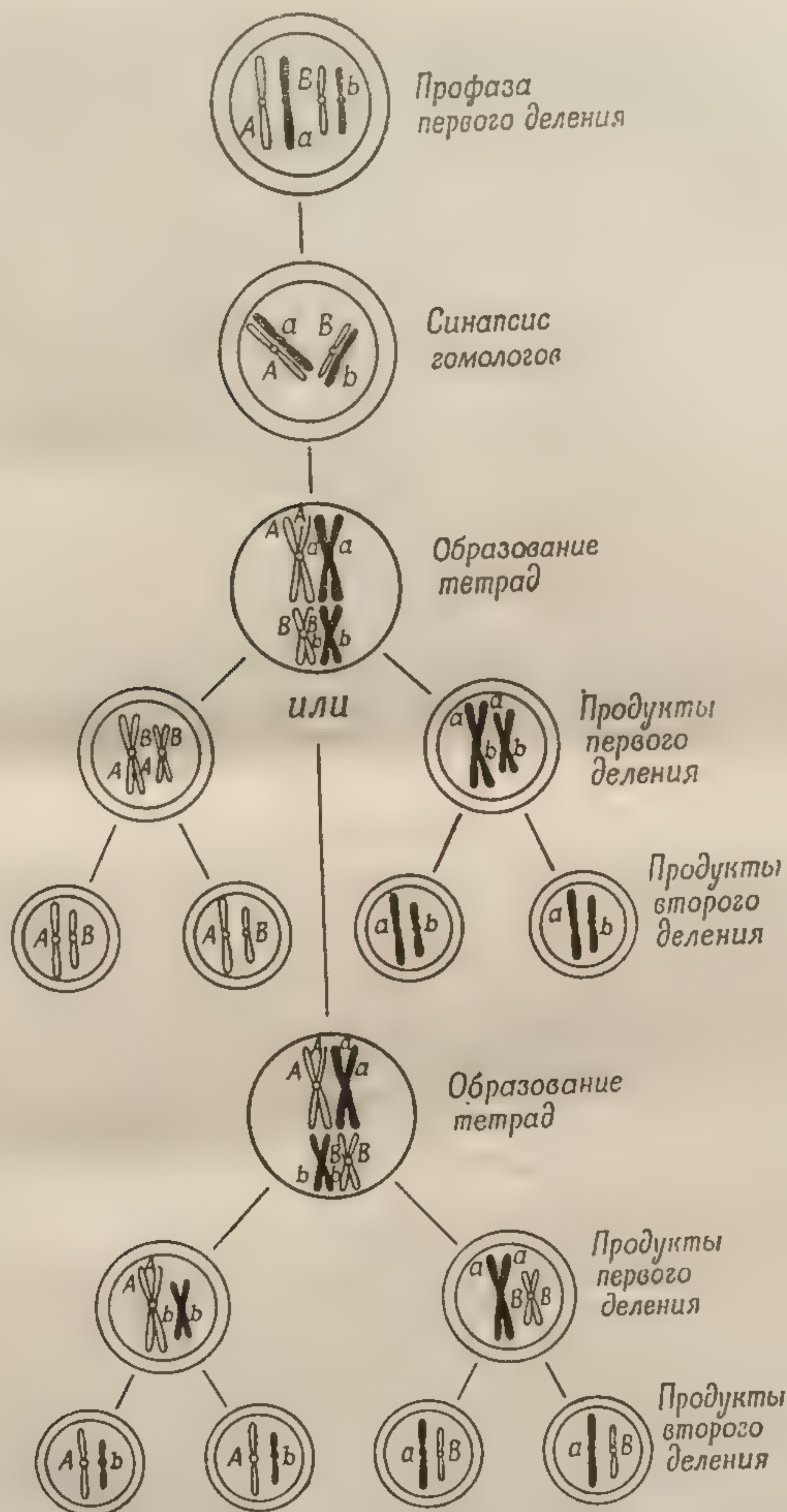
В период конъюгации или несколько позже наблюдается удвоение числа хромосом, причем каждый член пары делается двойным. В результате образуется пара тесно прилегающих друг к другу удвоенных частей каждой хромосомы, которые в отличие от материнской хромосомы называют сестринскими хроматидами. Таким образом, каждая из исходных пар гомологов превращается в тетраду или комплекс из четырех хроматид, состоящий из двух наборов пар идентичных (сестринских) хроматид. Члены каждой пары сестринских хроматид остаются скрепленными друг с другом в период этой фазы мейоза, так как они имеют лишь один центромер (или точку прикрепления нити веретена); при образовании сестринских хроматид процесс дупликации не распространяется на центромер (по крайней мере этого выявить не удастся).

Образованием тетрад заканчивается профаза первого деления, и наступает вторая фаза (метафаза). При этом тетрады располагаются в одной плоскости, перпендикулярно нитям веретена и примерно на равном расстоянии от полюсов клетки (см. фиг. 2). Метафаза заканчивается тем, что гомологичные хромосомы разъединяются и расходятся к противоположным полюсам. На фиг. 2 видно, что этот процесс эквивалентен расхождению гомологов, так как каждая дочерняя клетка получает при этом по одному члену каждой пары гомологов, присутствующей в исходной диплоидной зародышевой клетке.

Во время второго деления мейоза пары сестринских хроматид, имеющиеся в каждой из двух клеток, возникших во время первого деления, разъединяются и сестринские хроматиды расходятся к противоположным полюсам. В результате образуются четыре клет-



фиг. 2. Схема мейоза у организма с диплоидным набором хромосом 4 ($2n=4$). На рисунке показаны четыре стадии мейоза: 1. Профаза I, 2. Метафаза I, 3. Анафаза I, 4. Телофаза I. В каждой стадии показаны хромосомы, их расположение и движение.



Фиг. 2. Схема мейоза (описание процесса перекреста см. стр. 20).

ки, каждая с гаплоидным набором хромосом. Следует отметить (см. фиг. 2), что каждая из клеток, образовавшихся в результате мейоза, получает представителя от каждой пары гомологов. Это очень важное обстоятельство. Гаметы, в которых не хватает какой-

либо из хромосом, при оплодотворении обычно не дают жизнеспособных зигот. Второе важное обстоятельство, которое следует отметить, — это случайное расхождение гомологов. Таким образом, если гомологи отличаются по содержащимся в них генам, то в результате мейоза из диплоидной клетки, содержащей четыре хромосомы, получаются гаметы по крайней мере четырех разных типов. Это можно легко понять, если рассмотреть комбинации из двух букв, возникающие из комплекса Aa, Bb, причем каждая пара содержит по одной букве каждого типа: AB, Ab, aB и ab.

При конъюгации хромосом в процессе мейоза можно наблюдать, что одинаковые их части располагаются друг против друга. Таким образом, если хромосома A содержит гены ABCDEFGH, расположенные вдоль нее именно в этом порядке, и конъюгирует со своим гомологом a, в котором гены расположены в порядке a b c d e f g h,

то это будет выглядеть так:
$$\begin{array}{cccccccc} A & B & C & D & E & F & G & H \\ a & b & c & d & e & f & g & h \end{array}$$
 . Одинаковые, или аллельные, гены располагаются друг против друга, что будет ясно из дальнейшего изложения. Если сходные части не конъюгируют, то синапсиса не происходит и механизм мейоза нарушается.

МЕНДЕЛИЗМ

Явление менделизма заключается в появлении определенных соотношений фенотипов в потомстве. Оно представляет собой непосредственный результат мейоза с его случайным распределением хромосом у родителей, которое описано выше, и затем случайного сочетания гамет при восстановлении диплоидности в потомстве при оплодотворении, что описывается ниже.

Когда какая-либо особь дает потомство в отношении некоторых признаков лишь подобное себе (или его скрещивание с братьями или сестрами — членами той же семьи дает в потомстве без исключения тот же фенотип), то эта особь считается гомозиготной по данному признаку. Термин гомозиготный относится к генотипу. Он означает, что данный организм не только несет гены, ответственные за развитие данного признака, но что эти гены в гомологичных хромосомах идентичны. Гомозиготная особь дает в результате мейоза гаметы, идентичные в отношении генов, по которым она гомозиготна. Если гомозиготный организм скрещивается с другим организмом, имеющим такой же генотип, он дает в потомстве особи, которые идентичны родительским и друг другу. Это утверждение можно кратко записать генетическими символами: $AA \times AA$ (где A означает ген, ответственный за развитие определенного признака) дают в F_1 (первое поколение) потомство AA.

Две особи с разными фенотипами часто дают потомство, идентичное одному из родителей. Если обе родительские формы гомозиготны по соответствующим генам, контролирующим развитие данных признаков, то это скрещивание можно записать как $AA \times aa$.

Такая запись показывает, что один из родителей (AA) гомозиготен по гену A и во время мейоза одну из гомологичных пар его хромосом можно обозначить $\frac{A}{A}$. Генотип второй родительской формы мож-

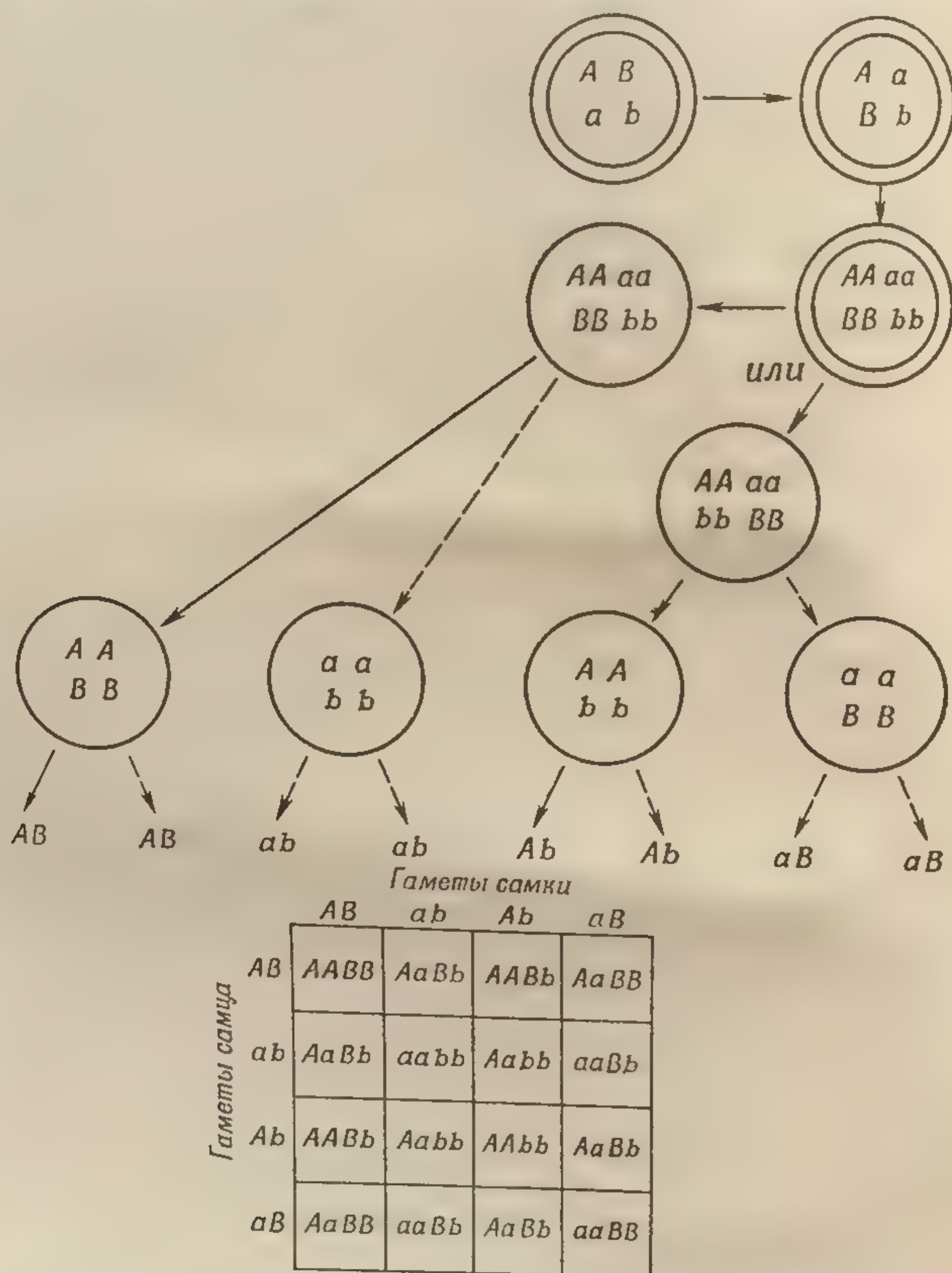
но изобразить так: $\frac{a}{a}$. Если допустить, что эти гены занимают одинаковое положение в гомологичных хромосомах, т. е. являются аллеломорфными, то становится ясным, что родительская форма AA даст гаметы A, а форма aa — гаметы a; поколение F₁ будет

$\frac{A}{a}$ или просто Aa. Это поколение будет гетерозиготно по генам A и a; иначе говоря, в потомстве оно не будет давать лишь себе подобных особей, поскольку особи F₁ будут производить два типа гамет — A и a — в равном количестве в результате расхождения гомологичных хромосом в мейозе. Если скрестить между собой особи F₁, то в следующем поколении F₂ появятся три разных генотипа: AA, Aa и aa. В результате случайной комбинации при оплодотворении равного количества яйцеклеток A и a равными числами спермиев A и a будет наблюдаться следующее соотношение генотипов — 1AA : 2Aa : 1aa.

Выше было указано, что в данном примере особи F₁ сходны с одним из родителей. Если допустить, что гетерозиготные особи Aa фенотипически сходны с родительской формой, имеющей генотип AA, становится очевидным, что ген A маскирует эффект своего аллеля a. Обычно при описании этого эффекта говорят, что ген A доминирует над a, или, иначе, a рецессивен по отношению к A. Соотношение генотипов в F₂ — 1AA : 2Aa : 1aa — фенотипически можно выразить как отношение 3 : 1, поскольку особи AA и Aa фенотипически неразличимы. Отношение 3 : 1 и будет менделевским отношением, которое обычно ожидается при скрещивании двух особей гетерозиготных по паре аллеломорфных генов, каждый из которых оказывает влияние на формирование противоположного фенотипа. Короче говоря, если получается такое отношение, то исследователь делает заключение, что два альтернативных фенотипических признака обусловлены аллеломорфными генами. Если один из аллеломорфов не полностью доминирует над другим, то наблюдается неполное доминирование или его отсутствие и гетерозиготы будут фенотипически отличаться от гомозигот. Это условие будет выражаться в фенотипическом отношении как 1 : 2 : 1, которое идентично ожидаемому генотипическому отношению.

Отношения 3 : 1 или 1 : 2 : 1 представляют собой основные менделевские отношения; все другие отношения являются производными от них. Предположим, например, что два животных различного пола гетерозиготны по двум парам аллеломорфных генов (причем эти пары локализованы в разных хромосомах) и имеют генотип AaBb. На фиг. 3 представлены типы гамет, которые должны образо-

ваться в результате мейоза у особи каждого пола, и показаны детали их возникновения. Необходимо отметить, что у самки каждая диплоидная клетка, претерпевающая мейоз, дает четыре гаплоидные клетки и лишь одна из них выживает как функционирующая гамета. Овогенез у животных в принципе идентичен спермиогенезу



Фиг. 3. Результаты расхождения двух пар гомологичных хромосом. Хромосомы, изображенные на фиг. 2, обозначены здесь соответствующими буквами. Пунктирные линии показывают образование полярных телец в процессе овогенеза. Как указано в тексте, принципы образования мужских и женских гамет идентичны. Решетка Пеннета в нижней части схемы иллюстрирует возможные генотипы, получающиеся при скрещивании двух особей, гетерозиготных по генам, расположенным в двух разных хромосомах.

в отношении распределения ядерного материала, но цитоплазма распределяется неравномерно, так что к концу второго деления она вся или почти вся остается с одним ядром. Это функционирующая гамета; другие клетки — это полярные тельца, которые впоследствии дегенерируют. Однако, поскольку тот факт, какое из четырех ядер, образовавшихся из исходной диплоидной клетки, получит всю цитоплазму, является чисто случайным, при овогенезе можно ожидать образования тех же типов гамет, что и при спермиогенезе, в том случае, если генотипы диплоидных зародышевых клеток одинаковы. Самое главное, нужно иметь в виду, что если в мейозе происходит расхождение более чем одной пары гомологов, то вопрос о том, какая из негомологичных хромосом отходит с любой из гомологичных в первом делении мейоза, является делом случая. Так, на фиг. 3 в клетке, где хромосомы обозначены $AaBb$, A может отойти с B и, следовательно, а с b ; или A и b отходят к одному полюсу и тогда a и B — к другому. Поэтому, как было указано выше, в процессе мейоза в клетке, гетерозиготной по двум парам генов, локализованных в разных хромосомах, ожидается образование четырех типов гамет. Если три пары аллеломорфных генов локализованы в 3 разных хромосомах, возможно образование 8 различных типов гамет.

Результаты комбинаций гамет при оплодотворении у особей, имеющих генотипы, указанные на фиг. 3, можно найти по решетке Пеннета, как это показано на рисунке. Генотипическое отношение будет, конечно, сложным из-за большого количества различных генотипов, которые получаются в результате этого скрещивания. Тип фенотипического отношения зависит от типа отношений доминирования между аллелями, а также от возможных взаимодействий между неаллеломорфными генами. Взаимодействия последнего типа будут подробно рассмотрены в гл. X. Если наблюдается полное доминирование генов A и B над соответствующими аллелями и не происходит взаимодействия генов, то наблюдается фенотипическое отношение $9 : 3 : 3 : 1$. Его можно написать как $9 AB : 3 Ab : 3 aB : 1 ab$, поскольку генотипы $AaBb$, $AaBB$, $AABb$ и $AABB$ можно обозначить фенотипически как AB . Подобным образом объединяются и другие генотипы. Другие типы отношений, возникающие в результате взаимодействия генов, приведены в табл. 36 (гл. X).

Тот факт, что эти отношения могут быть получены из более простого отношения $3 : 1$, которое наблюдается при расщеплении одной пары аллеломорфных генов, легко установить по методу вероятности. Например, при скрещивании $Aa \times Aa$ вероятность появления потомства, несущего ген A (генотипы Aa или AA), будет составлять 3 из 4, или $3/4$. Такова же вероятность того, что при скрещивании генотипов $Bb \times Bb$ потомство получит ген B . Поскольку гены B и b расщепляются независимо от генов A и a , вероятность того, что какой-либо индивидуум будет нести оба гена A и B в результате скрещивания особей с генотипами $AaBb \times AaBb$, будет составлять $3/4 \times 3/4 = 9/16$. Сходные перекombинации дают другие компо-

ненты отношения $9/16 : 3/16 : 3/16 : 1/16$ при использовании отношения $3 : 1$.

Из предшествующего изложения явления менделизма должно быть ясно, что если скрещиваются два организма из двух гомозиготных нерасщепляющихся линий, имеющие разный фенотип, и особи F_1 затем скрещиваются между собой, то фенотипическое расщепление в F_2 выявит генотипическую природу фенотипических различий. Точное расщепление в отношении $3 : 1$ или $1 : 2 : 1$, получаемое в F_2 , показывает, что различие является моногенным, т. е. представляет собой результат различий в действии двух аллеломорфных генов. С другой стороны, если получается иное отношение, как например $9 : 3 : 3 : 1$, то можно сделать заключение, что здесь участвует более одной пары аллеломорфных генов. Ясно, что определение гена базируется на типе получаемых менделевских отношений и, более того, на основе этих отношений можно определить, сколько пар генов (если их больше одной) определяет фенотипические различия между организмами.

СЦЕПЛЕНИЕ И ПЕРЕКРЕСТ

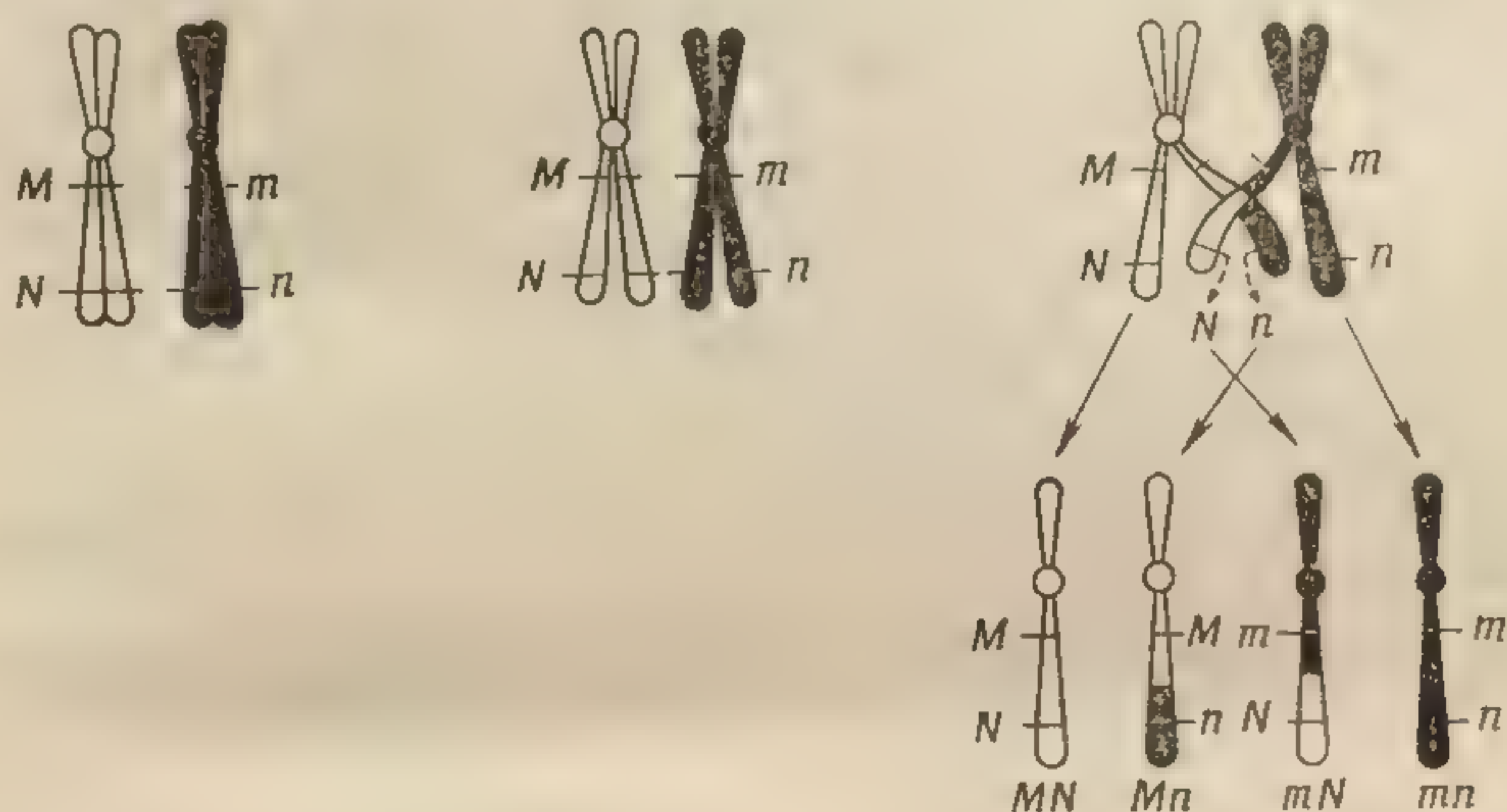
Поскольку каждая хромосома содержит много генов, расположенных в линейном порядке, следует ожидать, что фенотипическое различие может быть результатом различия в двух неаллеломорфных генах одной хромосомы. Такое явление описывается как сцепление. Например, предположим, что гены M и N расположены в одной хромосоме, а m и n — соответственно их аллели. Если скрещиваются две особи $MMNN$ и $mmnn$, то генотип F_1 будет $MmNn$ или

$$\frac{MN}{mn}$$

; согласно данным, изложенным в разделе «Менделизм», в F_2 будет три типа потомков: $MMNN$, $MmNn$ и $mmnn$, в отношении $1 : 2 : 1$. Поскольку такое отношение ожидается в F_2 от скрещивания родителей, отличающихся лишь одной парой аллелей, вывод должен быть следующим: M и N нельзя выявить как самостоятельные гены. Хотя целостность хромосомы и сохраняется из поколения в поколение, однако она не является абсолютной. После образования хроматид в первой профазе мейоза до разделения элементов тетрады имеет место процесс перекреста (кроссинговера). На фиг. 4 схематично изображен перекрест между двумя несестринскими хроматидами тетрады в районе между локусами двух генов M и N . В результате перекреста в этом участке при завершении мейоза получают два дополнительных типа гамет Mn и mN . Образование этих типов доказывает, что M и N и соответственно их аллели расположены в разных локусах и, следовательно, неаллеломорфны.

Перекрест представляет собой обычное явление и наблюдается, когда гомологичные хромосомы конъюгируют в мейозе и образуют хроматиды. Число возможных перекрестов, могущих произойти между хроматидами, ограничивается интерференцией, связанной

частично с механическими причинами, однако в каком именно месте произойдет перекрест и, следовательно, какие гены он разъединит, большей частью является делом случая. Поэтому следует ожидать, что гены, расположенные в хромосоме далеко друг от друга, будут разъединяться перекрестом чаще, чем близкие гены. На этом основано составление карты хромосом, связанное с локализацией генов по ее длине.



Ф и г. 4. Перекрест между хроматидами пары гомологичных хромосом.

Два гена могут быть расположены так близко друг от друга, что перекрест между ними происходит крайне редко, и поэтому его не удастся обнаружить в ряде опытов по скрещиванию. Следовательно, с помощью генетических методов они неразличимы как самостоятельные гены. Границы применения генетического метода для выявления генов определяются возможностями наблюдения перекрестов. Если генетическая единица никогда не разделяется путем перекреста на две, то делается вывод о том, что это один ген.

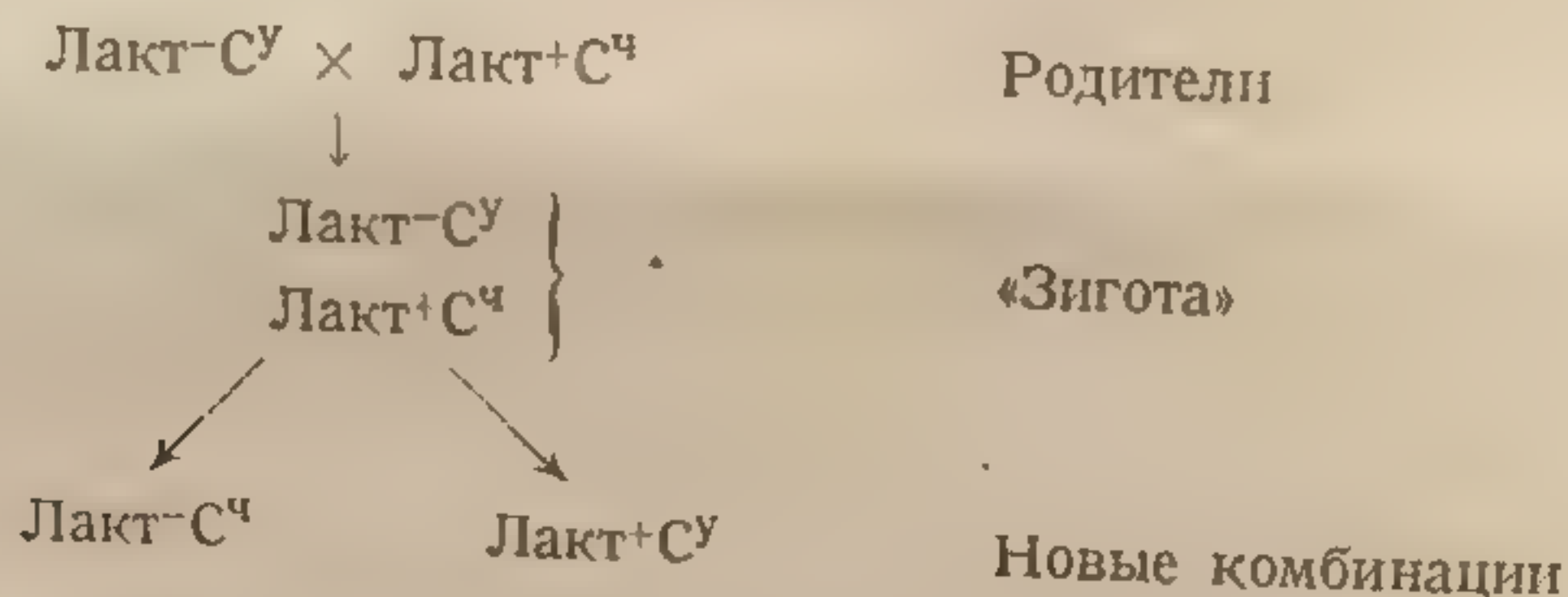
ПЕРЕКОМБИНАЦИИ ВООБЩЕ

В предыдущем разделе особое внимание было уделено проблеме перераспределения неаллеломорфных генов с целью выяснения концепции гена как единицы наследования. Важно отметить также, что перераспределение генов в процессе мейоза создает их новые комбинации. Эти новые комбинации неаллеломорфных генов являются важным источником изменчивости и служат показателем полового размножения. Линия, гомозиготная, например, по генам *C* и *D*, остается таковой, если не произойдет мутации (см. гл. III) или если ее не скрестят с линией, несущей гены *c* и *d*. Гетерозиготная особь *CcDd* дает гаметы с генами *Cd* и *cD*, которые возникают путем перекombинации в ходе мейоза. Таким образом, появление новых комбинаций служит показателем полового размножения.

поскольку это единственный способ, не считая мутации, благодаря которому гомозиготная линия может стать гетерозиготной.

Для того чтобы обнаружить наличие полового размножения у высших организмов, нет нужды отыскивать новые комбинации, так как можно наблюдать процесс оплодотворения. Однако у бактерий никогда не наблюдали слияния клеток с образованием зиготы, но известно, что у них происходит рекомбинация признаков [356] и, следовательно, имеет место какая-то форма полового размножения.

У некоторых штаммов *Escherichia coli* возникают новые комбинации, когда штаммы разных генотипов присутствуют вместе в жидкой среде. Например, смешивая штамм *E. coli*, неспособный сбраживать лактозу и устойчивый к стрептомицину, с другим штаммом, сбраживающим лактозу и чувствительным к стрептомицину, можно получить: 1) штамм, сбраживающий лактозу и устойчивый к стрептомицину, и 2) штамм, неспособный к сбраживанию лактозы и чувствительный к стрептомицину. Эти результаты можно истолковать, допустив, что произошла рекомбинация, как это показано на схеме:



Происходит ли истинная копуляция или слияние клеток — неизвестно. Примерно тот же результат может получиться, если клетки обмениваются частицами, содержащими наследственные единицы, обуславливающие проявление данных фенотипических особенностей. Имеются данные, говорящие о том, что подобные явления действительно имеют место у *Pneumococcus* [173] и *Haemophilus influenzae* [4], как это описано в гл. III. Было показано, что у *Salmonella* генетический обмен, приводящий к рекомбинациям, происходит посредством частиц бактериофага, переносящих генетические единицы из одной клетки в другую [611, 724]. Кроме того, было установлено, что у самих частиц бактериофага наблюдается рекомбинация [273].

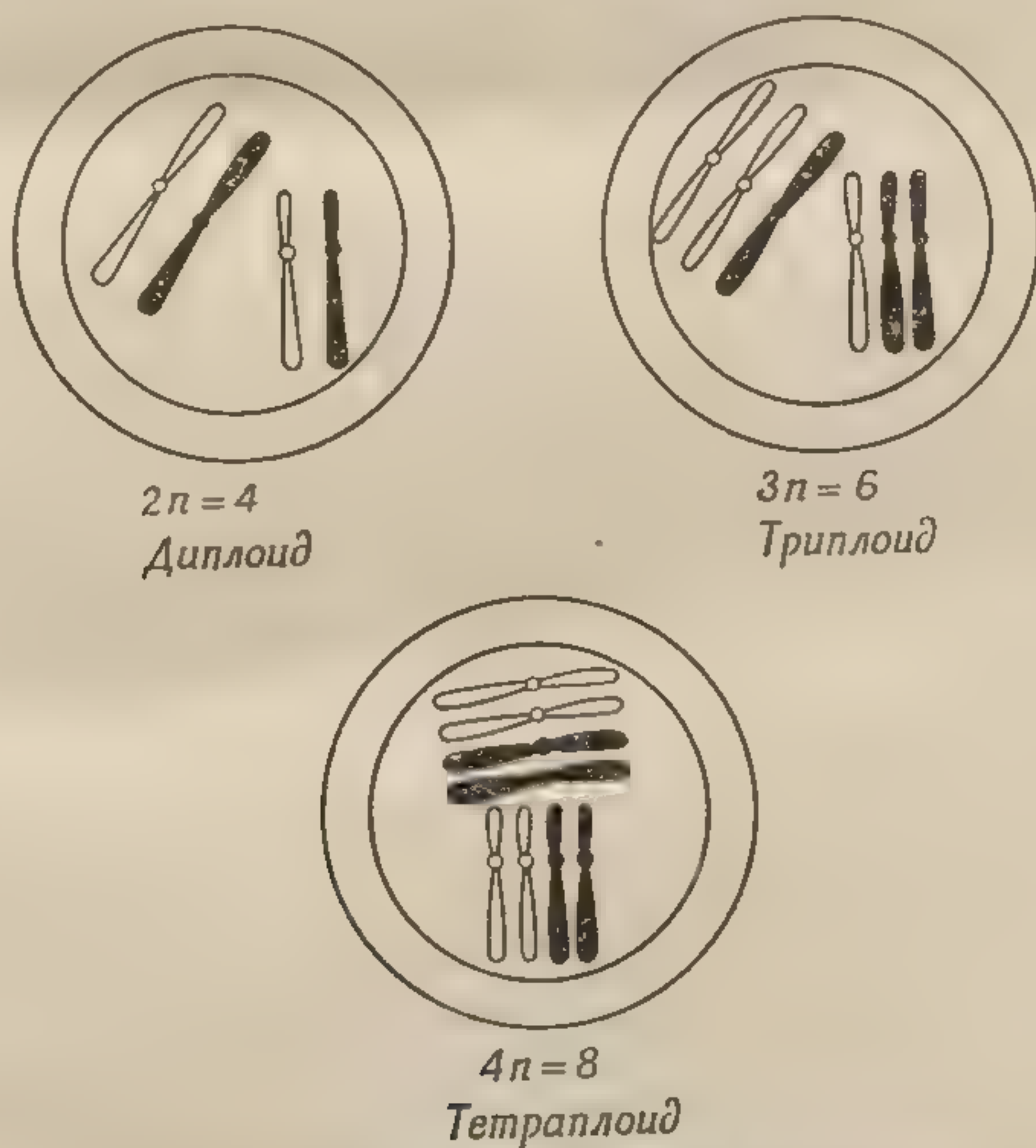
Путем учета рекомбинаций можно определить: 1) обусловлено ли наследование данного фенотипа одним или большим количеством генов; 2) более точные границы гена, чем это можно сделать другими способами; 3) наличие генов у организмов, у которых не обнаруживаются видимых признаков полового размножения. В первую очередь необходимо признать, что концепция гена возникла из опытов по скрещиванию и что наличие гена как наследственной единицы, отграниченной от других наследственных единиц, получено на основе изучения рекомбинаций. Кроме того,

необходимо отметить, что представление о том, что один ген аллеломорфен другому, основывается на том, что эти гены никогда не рекомбинируются. Поскольку при перекресте происходит обмен равными и эквивалентными участками хроматид, подобное явление и не может совершиться. Действительно, тот факт, что в редких случаях происходит неравный перекрест, который может быть обнаружен и приводит к появлению отклоняющихся от нормы фенотипов, является исключением, подтверждающим правило. Дальнейшие соображения о сущности рекомбинации и концепции гена приведены в гл. IX.

НЕКОТОРЫЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ И СИМВОЛЫ

Полиплоидия

Иногда в диплоидной клетке удваивается число хромосом и она становится тетраплоидной ($4n$) (фиг. 5). Гаметы тетраплоида будут диплоидными, и если они оплодотворят гаплоидные гаметы, то



Фиг. 5. Различные степени плоидности.

возникают триплоидные особи ($3n$) (фиг. 5). Встречаются также полиплоиды с более высоким числом хромосом, такие, как гексаплоиды, октоплоиды и декаплоиды и их производные с неполными хромосомными наборами. Как правило, у животных полиплоидия встречается редко, а у культурных растений и микроорганизмов,

таких, как дрожжи [489, 520] и, возможно, бактерии, она представляет собой обычное явление. Значение полиплоидии для действия генов заключается в том, что в полиплоидных клетках определенный ген может присутствовать более чем в двойном количестве. Это дает преимущество для изучения эффекта генов в разных дозах¹ (см. гл. IV и IX).

Гены и аллели генов

Локус гена в хромосоме, т. е. его местоположение, определяется в первую очередь при помощи перекреста, который при соответствующем анализе позволяет примерно определить положение гена по отношению к соседним генам той же хромосомы. В том же локусе, но не одновременно с данным геном могут быть расположены аллеломорфные гены. Аллеломорфные гены можно рассматривать как гены, занимающие идентичные локусы в гомологичных хромосомах, или, другими словами, как разные формы одного и того же гена. Оба определения являются общеупотребительными и используются в дальнейших главах. Определение аллеломорфов как различных форм одного гена очень удобно и часто употребляется, поскольку аллели вообще оказывают сходное влияние на фенотип.

Различия между аллелями одного локуса заключаются не только в том, что один из них является доминантным, а другой — рецессивным. Такие термины, как «стандартный» аллель, «мутантный» аллель, аллель «дикого типа» и «нормальный» аллель, обычно употребляются для описания аллеломорфных взаимоотношений. Ген, называемый «стандартным», — это аллель, с которым экспериментатор сравнивает все другие аллели данного локуса. Он может быть доминантным, но может и не быть таковым. Ген «дикого типа» вызывает развитие «нормального» фенотипа в дикой, или естественной, популяции. В этом смысле «дикий тип» и «нормальный» являются синонимами. Любое отклонение от дикого, или нормального, типа, возникающее путем мутации, приводит к возникновению «мутантного» аллеля или гена. Обычно аллель дикого типа, или нормальный, доминантен по отношению к мутантному.

Символы

Символы, употребляемые генетиками, — это большей частью буквы алфавита. Обычно заглавной буквой обозначают доминантный ген, а строчной — рецессивный. Если два гена обозначены одинаковой буквой, они являются аллеломорфными. Неаллеломорфные гены, оказывающие одинаковое или сходное влияние на фенотип, могут обозначаться одинаковой буквой, но с различными индексами. Так, w_1 и w_2 — это неаллеломорфные гены у кукурузы, но оба они обуславливают недостаток хлорофилла. Их аллели (нормальное

¹ Под дозой гена подразумевают число его идентичных аллелей в клетке. — Прим. ред.

содержание хлорофилла) обозначают, соответственно, W_1 и W_2 . Подобного типа заглавные, строчные буквы и индексы часто употребляют как генетики растений, так и исследователи, изучающие генетику млекопитающих и человека.

Несколько отличные символы применяют генетики, работающие с дрозофилой и микроорганизмами, такими, как грибы и бактерии. У этих организмов нормальный аллель, или аллель дикого типа, обозначается строчной буквой с надстрочным индексом. Так, ген нормальной окраски глаз у *Drosophila melanogaster* обозначается символом w^+ . Мутантный ген, аллеломорфный w^+ , обозначается символом w (white — белые глаза). Другие аллели этого локуса обозначаются индексами w^{co} , w^e и т. д. Мутантный ген, доминантный по отношению к аллелю дикого типа, обозначают заглавной буквой, а аллель дикого типа той же буквой, но с надстрочным индексом⁺. Если нет сомнения в том, о локусе какого гена идет речь, аллель дикого типа обозначают просто индексом $+$. Так, обозначение $w/+$ равнозначно w/w^+ .

Концепция гена

Наследование представляет собой в основном передачу отдельных частиц — генов, локализованных в более крупных единицах — хромосомах. Представление о наличии какого-то определенного гена основано на обнаружении альтернативных аллеломорфных форм, которые обычно влияют на те же особенности фенотипа, но в иной степени. Каждый ген представляет собой физическую единицу, которая 1) не разделяется перекрестом, 2) оказывает специфическое влияние на развитие фенотипа, 3) может удваиваться и передаваться из поколения в поколение и 4) мутировать, переходя в измененное состояние.

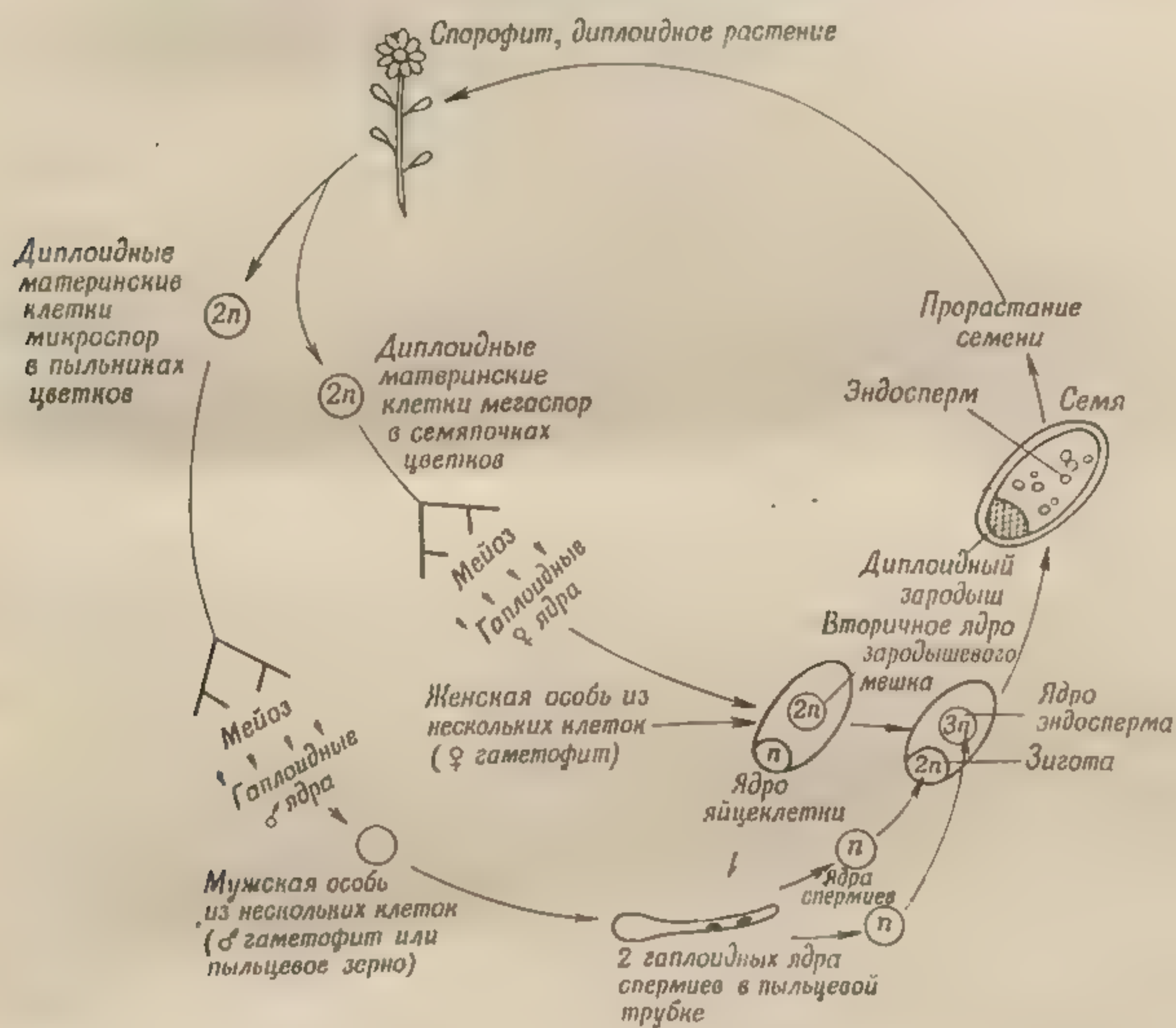
В приведенном выше определении гена другим частям клетки не отводится роли в наследственности.

Это не значит, что другие части клетки не играют такой роли, — просто большая часть из того, что известно в настоящее время о наследственности, оказывается связанным с передачей генов хромосом. Необходимо отметить, что в цитоплазме могут присутствовать частицы, обладающие всеми свойствами генов, за исключением лишь того, что они не локализованы в хромосомах и поэтому не дают менделевского расщепления (см. гл. XII). У генетиков даже имеется склонность называть эти частицы «цитоплазматическими генами». Однако в настоящей книге термин ген применяется лишь для обозначения частиц хромосом, которые расщепляются по законам Менделя.

Жизненный цикл

Принципы, изложенные в предыдущих разделах, относятся ко всем организмам, размножающимся половым путем. Однако их применение может быть не всегда ясно, если не будут поняты жизнен-

ринские клетки мегаспор образуются в семязпочке завязи цветка и дают начало специализированной структуре внутри семязпочки — зародышевому мешку, или женскому гаметофиту. Важные части этой структуры следующие: 1) гаплоидное ядро яйцеклетки у одного конца и 2) вторичное ядро зародышевого мешка, расположенное в центре, которое может быть диплоидным или иметь более высокую степень пloidности. Это ядро возникает в результате слияния двух или большего числа гаплоидных ядер внутри зародышевого мешка. У кукурузы вторичное ядро зародышевого мешка всегда диплоидно.



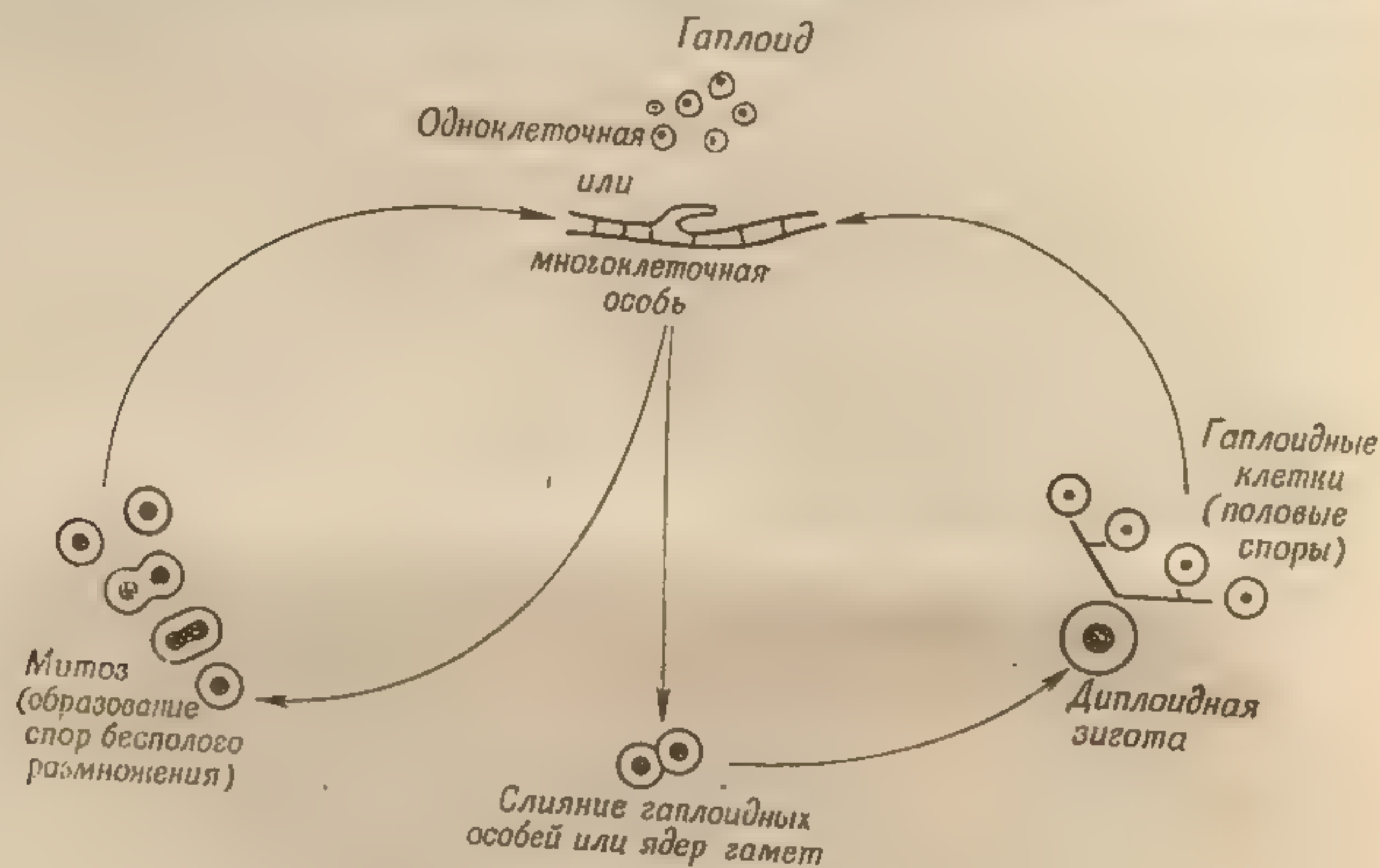
Ф и г. 7. Жизненный цикл цветкового растения.

Опыление состоит в том, что пыльцевое зерно попадает на рыльце и пыльцевая трубка сквозь ткань рыльца и столбика (соединяющего рыльце и завязь) проникает в завязь, где она приходит в контакт с зародышевым мешком. Затем два гаплоидных ядра из пыльцевой трубки (ядра спермиев) проникают в зародышевый мешок; одно из них сливается с ядром яйцеклетки с образованием зиготы, а другое — с вторичным ядром зародышевого мешка, давая ядро эндосперма. Ядро зиготы в результате ряда митотических делений дает начало зародышу, а ядро эндосперма — многим ядрам, которые вместе с окружающей их цитоплазмой составляют ткань эндосперма. Эта ткань выполняет лишь функцию питания. Зародыш, эндосперм и остальные части семязпочки, внутри которой развивается зароды-

шевый мешок, образуют семя. При прорастании семени зародыш развивается в новое диплоидное растение — спорофит. Завязь образует плод, который на схеме не показан.

На фиг. 8 изображена схема жизненного цикла микроорганизмов.

Как правило, примитивные организмы, такие, как бактерии, грибы, дрожжи и, возможно, большая часть водорослей в вегетативной фазе, — гаплоидны. Они размножаются бесполом путем при



Фиг. 8. Схема жизненного цикла микроорганизмов.

помощи митоза, образуя большое число клеток и спор, которые представляют собой специализированные клетки, дающие начало мицелию, нитям и т. д. Диплоидной фазой является лишь зигота, которая почти тотчас же претерпевает мейоз с образованием гаплоидных клеток, начинающих снова вегетативный цикл. Имеется довольно много исключений из этого общего правила, и поэтому необходимо тщательно изучать каждый вид или штамм микроорганизма, прежде чем отнести его жизненный цикл к изображенному здесь типу. Например, имеются данные о том, что многие дрожжи и бактерии полиплоидны и поэтому закономерности наследования у них сложные. Многие микроорганизмы как будто размножаются лишь бесполом путем, но, возможно, это мнение сложилось лишь потому, что их жизненные циклы изучить очень трудно. Как указано выше, у некоторых бактерий имеется стадия, равноценная половому размножению, хотя они не образуют зиготы.

Большое число экспериментальных данных, описываемых в настоящей книге, получено при изучении гриба *Neurospora crassa*, жизненный цикл которого представлен в виде схемы на фиг. 8 и 28. Характерной особенностью этого гриба, а также ряда других,

жизненный цикл которых не представлен на схемах, является то, что вегетативный мицелий имеет перфорированные поперечные перегородки, что допускает свободную миграцию ядер и цитоплазматических компонентов вдоль гифов. Таким образом, определенных дискретных клеток в мицелии нет, и в одной и той же цитоплазме имеется много ядер. Известен также механизм слияния гифов разных штаммов; при этом ядра, а возможно и цитоплазма, перемещаются и наблюдается явление гетерокариоза [28]. Этот термин обозначает наличие ядер разной конституции в одной цитоплазме. В некоторых отношениях гетерокариоз напоминает процесс, наблюдаемый у диплоидов, так как взаимодействие между различными ядрами приводит к результатам, очень сходным с теми, которые наблюдаются у гетерозиготных диплоидов. С другой стороны, в гетерокарионах генетические и внешние факторы оказывают большее влияние на соотношение ядер, находящихся в общей цитоплазме, и часто происходит положительный отбор одних ядер и отрицательный других. Взаимодействие генов при гетерокариозе в силу необходимости происходит косвенно через цитоплазму, тогда как у диплоидов оно может совершаться и так и иначе.

Гетерокариоз позволяет выявлять генетические различия между штаммами без наличия половой стадии, однако результаты, полученные таким путем, нельзя рассматривать как окончательные. Штаммы, несущие разные мутации, часто не образуют гетерокариона. С другой стороны, образование гетерокарионов не является еще доказательством наличия генетического различия в отношении исследуемого признака. Можно лишь сделать заключение о возможности такого различия, поскольку ядра, несущие разные аллели, могут, взаимодействуя, давать фенотип, отличающийся от родительской формы. Таким образом, гетерокариоз можно использовать для выявления генетических различий, однако, чтобы получить двойные мутанты и вновь единичные из двойных, приходится пользоваться обычными генетическими экспериментами.

НЕКОТОРЫЕ ЛИТЕРАТУРНЫЕ ИСТОЧНИКИ ОБЩЕГО ХАРАКТЕРА

Хотя здесь и была сделана попытка изложить основные данные, чтобы стали понятными те важные проблемы, которые обсуждаются в этой книге, читатель, возможно, сочтет необходимым получить дополнительные сведения из других работ более общего характера или более специальных, чем настоящая книга. Среди многих прекрасных руководств по генетике наиболее полезными в данном случае будут книги Срба и Оуэна [743]; Синнота, Денна и Добжанского [565] и Гольдшмидта [734]. Общие и частные проблемы биохимии понятно изложены Фратоном и Симмондсом [732]. Более специальные данные, касающиеся современных направлений генетики, можно найти в книге «Генетика в двадцатом веке», изданной Денном [730]. Подробное изложение генетики микроорганизмов имеется в книге

Брауна [728], посвященной бактериям, и книге Кэтчсайда [729], где рассматриваются микроорганизмы вообще. И в той и в другой книге обсуждаются также биохимические проблемы генетики микроорганизмов. Обзор по генетике вирусов сделан Луриа [384]. Много интересных соображений о связи между генетикой и обменом изложено в открывающих дальнейшие перспективы работах Холдена [251, 253].

а [729],
другой
и микро-
а [384].
обменом
ах Хол-

Глава II

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ О СТРУКТУРЕ И ФУНКЦИИ КЛЕТКИ

Преемственность явлений жизни через ряд клеточных поколений возможна лишь потому, что клетки имеют определенную организацию, удваивающуюся при каждом клеточном делении. Физическая и химическая основа этой организации была понятна лишь в общих чертах до той поры, когда в XX в. с развитием генетики было показано, что хромосомы поддерживают свою целостность от одного клеточного поколения к другому и в основном именно они ответственны за передачу признаков. Насколько важна в этой связи роль других частей клетки по сравнению с бесспорно важной ролью хромосом в этом процессе, представляет в настоящее время лишь предмет предположений и исследований (см. гл. XI).

Во всяком случае, очень важно, что отдельная клетка обладает организацией и что ее фенотип является результатом этой организации. Любое материалистическое понимание наследственности поэтому должно быть основано на понимании химической и физической природы организации клетки.

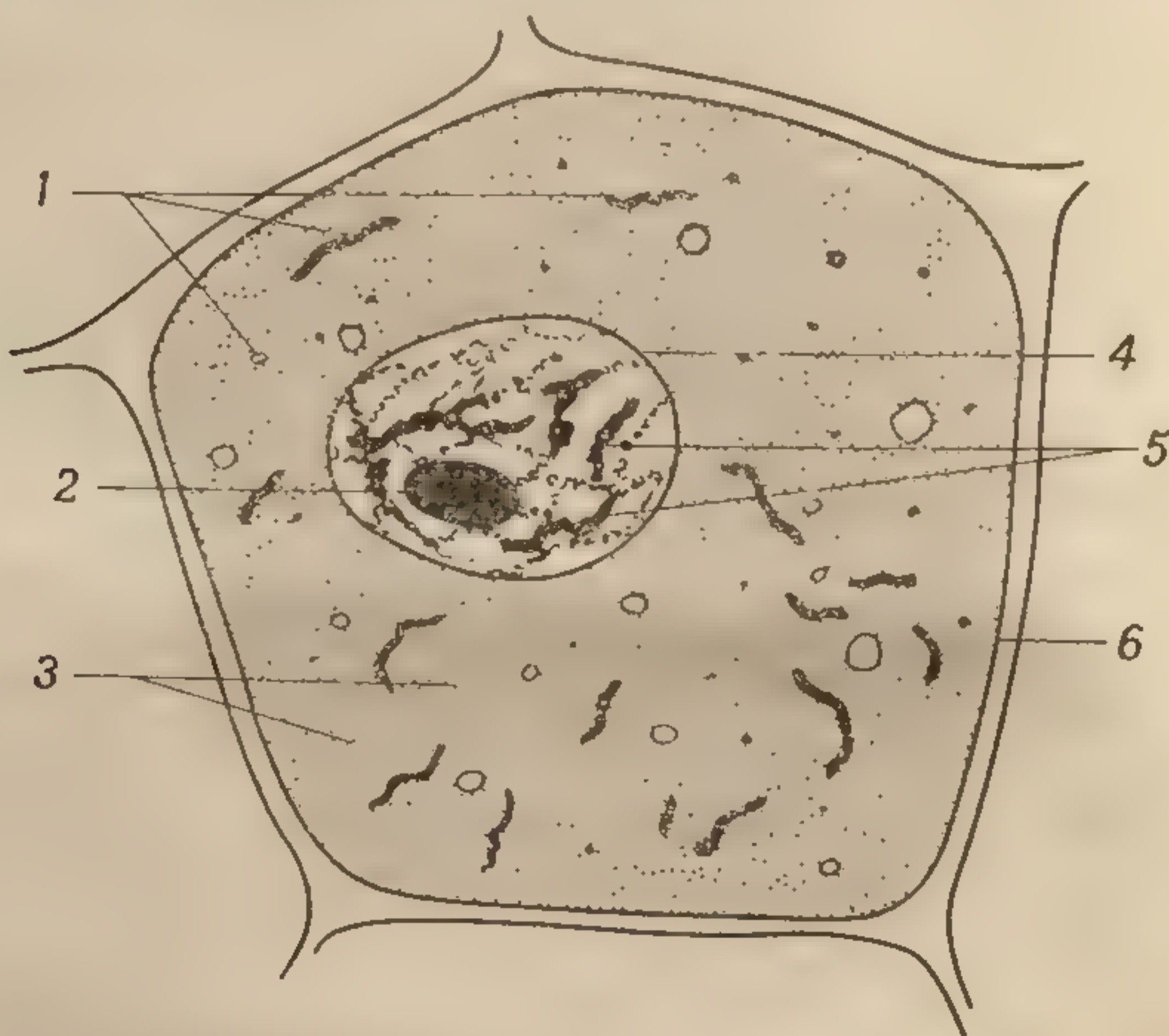
ОБЩИЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК

Все клетки имеют некоторые общие черты, не считая того, что они способны размножаться и образовывать две дочерние клетки. Связь между содержимым клетки и внешней для нее средой осуществляется через плазматическую мембрану, которая функционирует одновременно как оболочка, сдерживающая все содержимое клетки, а также как мембрана, обладающая избирательной проницаемостью. Эта оболочка в значительной степени регулирует передвижение материалов внутрь клетки и из нее, причем этот контроль распространяется не только на количественную, но и качественную регуляцию, поскольку мембрана может быть полностью непроницаемой для некоторых соединений. Это свойство плазматической мембраны делает ее одним из важных регуляторов обмена веществ внутри клетки.

Внутри этой мембраны почти всегда ясно различимы два компонента клетки: ядро и цитоплазма. Дальнейшее изучение этих двух частей выявляет высокую степень их организации и специализации,

что имеет большое значение для проблемы преемственности и функции клетки (фиг. 9).

Цитоплазма — это часть протоплазмы, не входящая в состав ядра. Она отделена от содержимого ядра ядерной оболочкой, проницаемость которой почти совершенно не изучена [7]. Во время клеточного деления почти у всех организмов, кроме простейших, ядерная оболочка разрушается. В телсфазе она вновь восстанавливается



Фиг. 9. Схема клетки.

1 — митохондрии, 2 — ядрышко, 3 — микросомы, 4 — ядерная оболочка, 5 — хроматин, 6 — клеточная оболочка.

Цитоплазма обычно может быть либо в состоянии золь, либо геля. В животных клетках эктоплазма — корковая часть цитоплазмы, расположенная под плазматической мембраной, — обычно находится в состоянии геля, тогда как внутренняя часть имеет гораздо меньшую вязкость и находится в состоянии золь. Это состояние цитоплазмы (различная вязкость) является обратимым. Золь может перейти в гель и наоборот. Вышеуказанная способность цитоплазмы позволяет некоторым клеткам передвигаться с помощью амебоидных движений, а также изменять или сохранять форму, реагируя на изменения окружающей среды.

Цитоплазма — это сложная коллоидная система, дисперсной средой которой является вода, содержащая значительное количество растворимых в ней веществ, таких, как углеводы, минеральные соли и аминокислоты в истинном растворе. В дисперсной среде взвешено большое число различного рода частиц, размер которых варьирует

от видимых под микроскопом до имеющих размер значительно менее $0,2 \mu$ — примерная граница разрешающей способности обычного микроскопа. Эта фаза частиц весьма гетерогенна, и состав ее очень сильно варьирует в клетках различного типа. Однако два типа частиц — митохондрии и микросомы, по-видимому, присутствуют во всех клетках. Размер митохондрий варьирует от размеров частиц, находящихся на грани разрешающей способности обычного микроскопа ($\sim 0,2 \mu$), до нескольких микронов в длину или диаметре. Форма митохондрий варьирует в зависимости от того, из какой ткани они получены; они могут быть палочкообразными, нитевидными или почти шарообразными. В некоторых клетках они кажутся подвижными, что связано с хорошо известным явлением движения протоплазмы. Функционально митохондрии, очевидно, являются центрами некоторых ступеней окислительных процессов при обмене [282]. Строение и функция митохондрий более подробно разбираются в гл. VI.

Микросомы — это субмикроскопические частицы, размер которых варьирует от 50 до 200 $m\mu$ [107]. Имеются противоречивые высказывания о том, существуют ли они вообще как таковые, однако данные о том, что в цитоплазме имеется материал, который обладает теми физическими и химическими свойствами, которые приписываются этим частицам, очевидно, неоспоримы. Они, по-видимому, обладают ферментативной активностью, поскольку в концентрированной фракции микросом, выделенной путем центрифугирования, наблюдается высокая дегидразная активность динуклеотида [544]. Что касается химического состава, то для них характерно наличие рибонуклеиновой кислоты, фосфолипидов и белка в относительно высокой концентрации. Согласно Клоду [108, 546], большая часть рибонуклеиновой кислоты интактной клетки связана с микросомами. Митохондрии и микросомы — это обычные, но не единственные цитоплазматические частицы, обнаруженные во всех клетках. Дифференциальное центрифугирование большого числа клеток различных типов показало, что имеется целый ряд цитоплазматических частиц, составляющих почти непрерывный спектр по размеру и плотности, начиная от размера субколлоидных и коллоидных частиц и кончая микроскопически видимыми, как митохондрии. Природа этих частиц в значительной степени зависит от типа клетки. При дифференциации клеток, по-видимому, наблюдается сопутствующее ей изменение частиц [544]; поэтому следует ожидать, что состав частиц цитоплазмы различен в разных тканях.

Животные клетки вообще несколько отличаются от растительных в отношении цитоплазматических включений. Тельца Гольджи и центросомы являются типичными компонентами цитоплазмы животных клеток (функция первых неясна, вторые играют роль в клеточном делении). Тельца Гольджи никогда не были обнаружены в растительных клетках, центросомы найдены лишь в клетках несосудистых растений. С другой стороны, клетки фотосинтезирую-

щих растений (кроме сине-зеленых водорослей и фотосинтезирующих бактерий) всегда содержат различного типа пластыды; из них наиболее заметны под микроскопом хлоропласты, содержащие хлорофилл и другие важные компоненты аппарата фотосинтеза. Наряду с митохондриями в цитоплазме обнаружены во взвешенном состоянии другие частицы, многие из которых находятся в пределах видимости; капельки жира, гликоген, меланин, крахмал, гранулы волютина (возможно, метафосфата) [379], кристаллы пуринов, мочевой кислоты и т. д. Эти частицы редко можно обнаружить в одной и той же клетке, а иногда это и вовсе не удастся, но они характерны для клеток различного типа.

В дисперсной среде цитоплазмы содержится большое количество ферментов, концентрация которых в цитоплазме может и не быть однородной. Возможно, что многие вещества, находящиеся в цитоплазме в виде небольших молекул, распространены по всей клетке, так как они, вероятно, проникают сквозь ядерную оболочку.

В связи с тем, что ядро содержит хромосомы, цитологи и биохимики уделяли большее внимание физическим и химическим свойствам ядра, чем любого другого компонента протоплазмы. Некоторые из полученных данных обсуждаются в следующем разделе.

ЯДРО

Ядро — это высокоорганизованная структура, содержащая ряд цитологически различимых частей. Оно содержит хромосомы, ядрышки (см. фиг. 11), веретено и ядерную оболочку, но относительная видимость этих структур зависит от времени наблюдения, поскольку в период деления в ядре наблюдаются регулярные циклические изменения. Поэтому обобщенное описание ядра в отношении его физического состояния и химического состава дать невозможно. Тем не менее имеется много аналитических данных, дающих возможность дать описание клеточного ядра и его компонентов.

Эти данные частично получены при изучении ядер, выделенных из неделящихся или медленно делящихся клеток, таких, как эритроциты цыпленка, зрелые спермии или клетки печени взрослых животных. Из этих клеток можно извлекать ядра в количествах, позволяющих проводить химические анализы и выделять некоторые из ядерных компонентов в виде достаточно гомогенных препаратов [150]. Общие анализы таких препаратов дали очень ценные сведения, особенно в сочетании с данными, полученными при помощи оптических методов и микротехники. Например, общий анализ показал, что ядра содержат дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК), рибонуклеиновую кислоту (РНК) и белок. Нуклеиновые кислоты обоих типов сильно поглощают ультрафиолетовые лучи, и, наблюдая ядра даже в живых клетках, можно определить концентрацию этих веществ и места их локализации внутри ядер [94].

Белки поглощают ультрафиолетовые лучи гораздо менее интенсивно, и определить их локализацию и концентрацию легче, исполь-

зую методы окраски или окраску в сочетании с обработкой фиксированных тканей или изолированных ядер ферментами или химическими веществами [323, 324, 407, 414, 558]. Подобное сочетание оптических и химических методов можно применять также и для изучения нуклеиновых кислот [323, 414].

Таким образом, общий анализ ядер позволяет получить данные о природе химических компонентов ядра и служит основой для определения типов красителей и реакций, которые нужно использовать при изучении физической непрерывности и локализации специфических химических компонентов внутри ядра, при изучении их под микроскопом в видимом свете или ультрафиолете.

Химический состав ядра в целом

Для выделения ядер из ряда тканей используются два основных метода. В первом применяются органические растворители и дифференциальное центрифугирование клеточных материалов, полученных из высушенных и тщательно измельченных тканей [150]. Обычно употребляют бензол и хлороформ, а также их смесь. Второй метод также связан с дифференциальным центрифугированием, но ядра выделяют из сырых тканей и взвесь их получают в кислом или нейтральном цитратном буфере. Оба метода дают достаточно гомогенные препараты ядер, что можно проверить под микроскопом. Однако ни один из этих методов не дает возможности получить ядра в нативном состоянии, поскольку ядра, выделяемые в органических растворителях, теряют вещества, растворимые в них, а выделяемые в водных растворителях теряют вещества, растворимые в буфере. Кроме того, во время обеих процедур, безусловно, происходит денатурация белков. Важно также учитывать возможность адсорбции на ядрах цитоплазматических компонентов. В связи с этим были высказаны противоречивые мнения, в частности в связи с вопросом о содержании ферментов в изолированных ядрах [150].

За исключением сперматозоидов, в которых имеется очень незначительное количество цитоплазмы, ядра обычно занимают 10—20% объема клетки и содержат 15—25% азота клетки [544]. Очень важным компонентом азотсодержащего ядерного материала является дезоксирибонуклеиновая кислота. Это вещество составляет 10—15% от сухого веса ядер, выделенных из печени в водном растворе [414, 544]; содержание его достигает $2,4 \cdot 10^{-9}$ мг на ядро (клетки печени курицы). При нормальных условиях (за исключением заражения фагами и вирусами) ДНК удастся обнаружить лишь в клеточных ядрах, где она связана с хромосомами. У какого-либо определенного вида количество содержащейся в каждой клетке ДНК строго пропорционально числу хромосомных наборов в клетке [49, 415]. Например, оказалось, что клетки печени и эритроциты курицы содержат соответственно $2,39 \cdot 10^{-9}$ и $2,34 \cdot 10^{-9}$ мг ДНК на клетку, тогда как гаплоидный спермий того же вида содержит ее $1,26 \cdot 10^{-9}$ мг на клетку, или примерно половинное количество ее

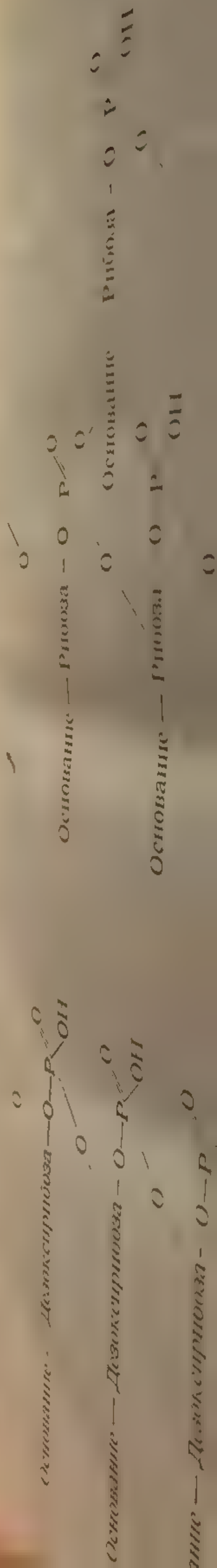
содержания в диплоидной ткани. Некоторые овоциты, по-видимому, являются исключением из этого правила [662]. Несмотря на это, в настоящее время имеется достаточно данных, показывающих, что это постоянство концентрации ДНК — реально существующее явление. Хотя уровень ДНК достаточно постоянен в ядрах одного вида организмов, он широко варьирует у разных видов (от $0,12 \cdot 10^{-9}$ до $160 \cdot 10^{-9}$ мг на клетку) и, возможно, имеется связь между увеличением размера клеток и возрастанием содержания ДНК.

В настоящее время имеется большое число данных о методах выделения ДНК из тканей или ядер и об анализе и строении молекул ДНК [77, 105, 405, 566, 570, 678]. Здесь достаточно указать, что ДНК имеет молекулярный вес порядка 5—10 млн.; она состоит, по-видимому, из закрученных цепей нуклеотидов, каждый из которых содержит связанные друг с другом гетероциклическое основание, дезоксирибозу и фосфорный эфир (фиг. 10). Гетероциклическими основаниями могут быть: аденин, гуанин, тимин, цитозин, 5-метилцитозин и редко в фагах 5-оксиметилцитозин. Типичный пример содержания оснований в молях на 100 молей фосфора (ДНК тимуса телят) следующий: аденина 27,6; гуанина 23,5; тимина 28,0; цитозина 19,7; 5-метилцитозина 1,2. Эти отношения заметно варьируют в разных типах ДНК, но обычно не более, чем значения для первых четырех оснований отклоняются от 25. Обычно если относительно высоко содержание аденина, то повышено и содержание тимина. Данные по определению расположения пуриновых и пиримидиновых оснований в цепочках ДНК показали, что распределение их, по всей вероятности, случайно. Это значит, что основания не располагаются так, чтобы определенные группы тетра- или пентануклеотидов повторялись, хотя, возможно, в ДНК данного вида организмов основания расположены в определенном порядке.

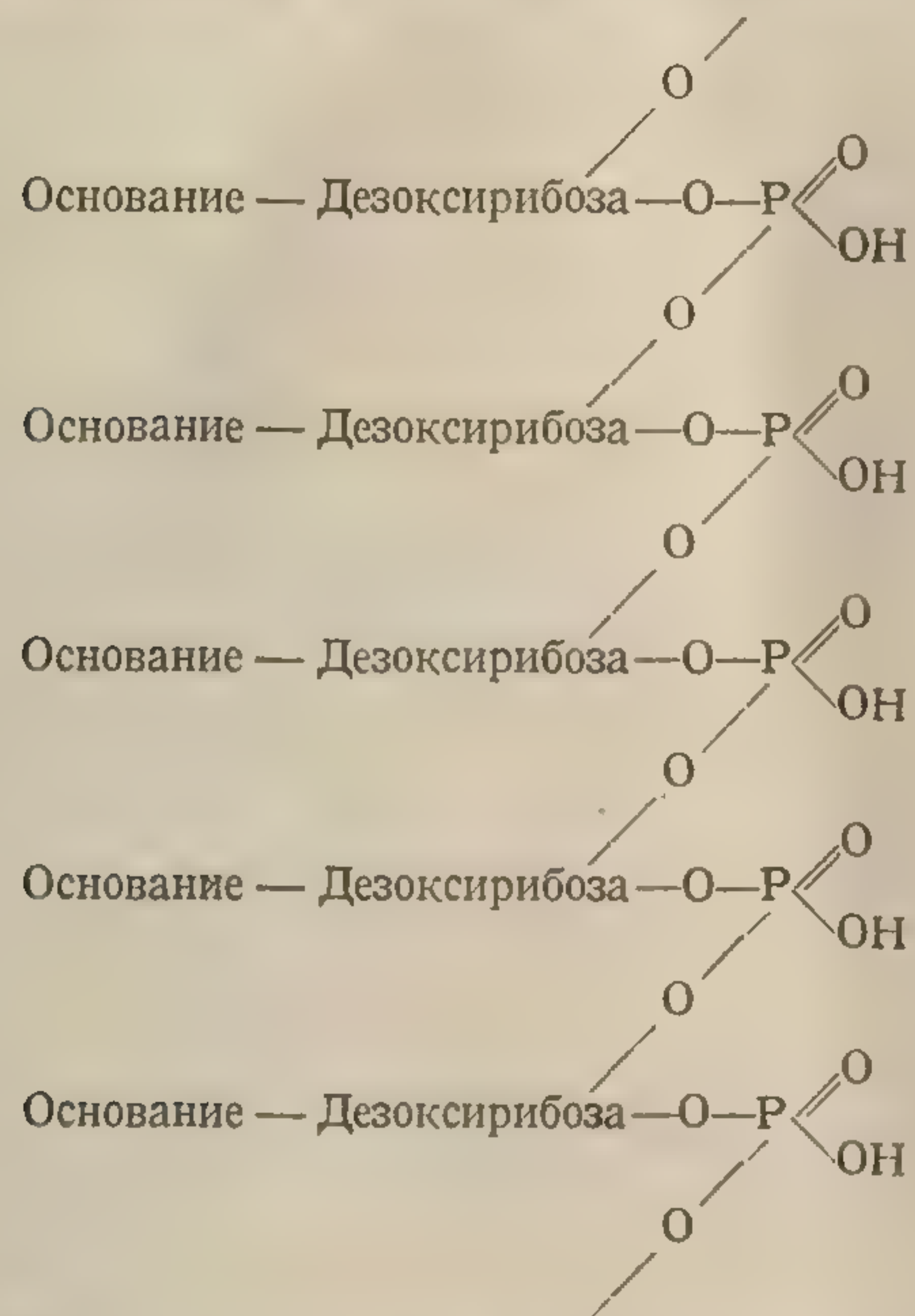
Все исследованные ядра содержат как ДНК, так и РНК. Концентрация последнего компонента сильно варьирует даже в ядрах из одной ткани, и лишь часть РНК клетки содержится в ядре. Содержание ДНК в ядре колеблется от 3 до 35%, что соответствует примерно 2—20% от сухого веса ядер. Эти колебания в широких пределах обусловлены как различными методами выделения и анализа, так и несомненно существующими физиологическими различиями, возникающими в результате изменений в ходе ядерного цикла и от резких различий в обмене веществ между тканями. Рибонуклеиновые кислоты химически не так хорошо изучены, как дезоксирибонуклеиновые, и, возможно, в первой группе наблюдается большее разнообразие формы, величины и строения молекул. Рибонуклеиновые кислоты содержат прямые цепи и разветвленные цепи нуклеотидов, гетероциклическими основаниями в которых являются: аденин, гуанин, урацил и цитозин. Как ДНК, так и РНК в нативном состоянии связаны с белками.

Ядра вообще содержат значительное количество липидов (до 3—10% от их сухого веса). О химических свойствах этих веществ известно относительно мало, однако имеются данные о том, что это

РНК. Линейные и разветвленные полинуклеотидные цепи, содержащие от 10 до 300 оснований



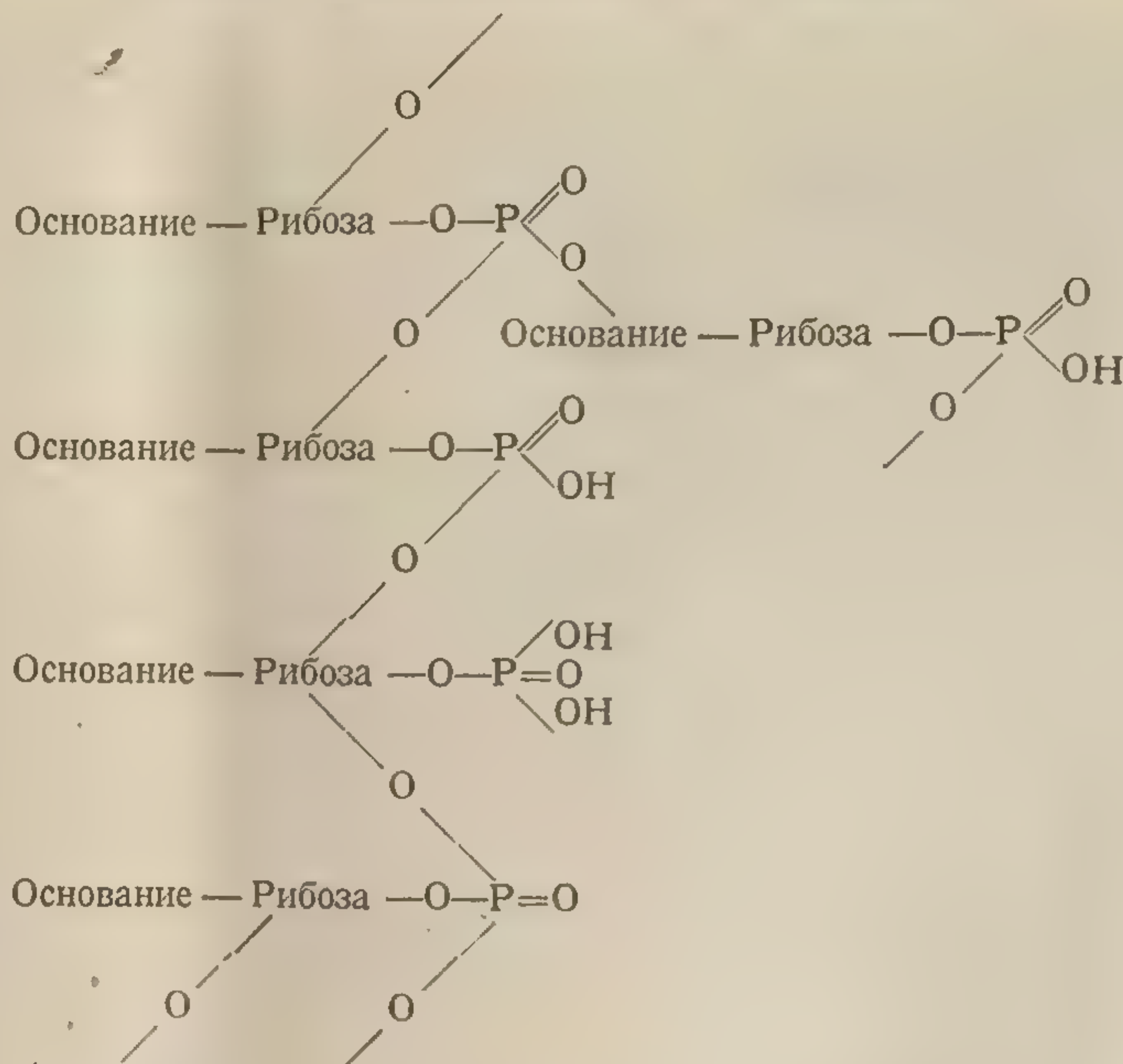
ДНК. Большей частью линейные полинуклеотидные цепи, содержащие от 3000 до 10 000 остатков



Основания

Аденин 5-Метилцитозин (не найден у микро-
 Гуанин организмов)
 Цитозин 5-Оксиметилцитозин (найден у некоторых
 Тимин фагов)

РНК. Линейные и разветвленные полинуклеотидные цепи, содержащие от 50 до 300 остатков



Основания

Аденин
 Гуанин
 Цитозин
 Урацил

Фиг. 10. Сходства и различия между дезоксирибонуклеиновыми и рибонуклеиновыми кислотами (определены приблизительно, поскольку не получены препараты, содержащие лишь молекулы одного типа)

преимущественно фосфолипиды, куда входят лецитины и кефалины [544].

Что касается содержания и состава белков в ядрах, то картина здесь очень сложна, и для ее выяснения необходимо еще много работать. Первые работы, проведенные с ядрами спермиев, привели к несколько неправильному взгляду, что почти все белки, имеющиеся в спермии, относятся к типу полипептидов с резко выраженными основными свойствами, которые имеют низкий молекулярный вес и известны под названием протаминов. Эти вещества содержат до 90% аргинина и не содержат ароматических и серусодержащих аминокислот. Некоторые типы спермиев и ядра большинства клеток содержат другой тип белков с основными свойствами — гистоны. Эти вещества, полученные из разных источников, сходны по своему аминокислотному составу, но не идентичны [127]. Они содержат особенно много лизина и аргинина, но также около 15 других аминокислот, включая большое количество лейцина, аланина, глицина и глутаминовой кислоты (а возможно, и глутамина). Тирозин в них имеется, а триптофан отсутствует. Молекулярный вес гистонов достигает по крайней мере 30 000, и в противоположность протаминам они при диализе не проходят через целлофановые мембраны. Оба типа белков с основными свойствами, по-видимому, образуют соли с нуклеиновыми кислотами типа нуклеопротеидов.

В ядрах спермиев рыб, около 60% сухого веса которых составляет ДНК, содержится до 20% протаминов. Кроме протаминов, в них имеется другой белковый компонент, содержащий триптофан, и по крайней мере часть этого материала, возможно до 10% веса ядра, составляет фибриллярный белок, входящий в состав хромосомных нитей. Данные, полученные о ядрах других клеток, кроме спермиев, очень трудно истолковать в отношении количества и качества содержащихся в них белков. Ядра из ткани тимуса, печени и почек (возможно, вообще всех тканей, в которых отсутствуют протамины) содержат гистоны в количестве примерно того же порядка, что и ДНК. Кроме того, в этих ядрах имеется белковый компонент, содержащий ~ 1% триптофана, концентрация которого варьирует и который, по-видимому, особенно важен для структуры хромосом (стр. 40). Содержание этого компонента варьирует, составляя от 1/5 до 1/2 наличия ДНК.

Кроме этих белков, ядра содержат ферменты, но картина здесь осложняется вопросами, которые связаны с техникой эксперимента. Во-первых, ядра, полученные выделением из сухого материала при помощи органических растворителей, теряют до 60% своего сухого веса, когда их экстрагируют в водных буферных растворах, и большая часть этого экстрагируемого материала представлена белками и, возможно, растворимыми или инактивированными ферментами. Имеются данные о том, что ядра из печени, полученные даже в виде взвеси в воде, содержат альдозазу, оксидазу *d*-аминокислот, аргиназу, энлазу, эстеразу, щелочную и кислую фосфатазы, фосфоорилазу, дегидразу молочной кислоты и уриказу [150]. В тех же препа-

ратах не было обнаружено активности каталазы и дегидразы янтарной кислоты. Из тех препаратов, где была обнаружена активность, лишь удельная активность фосфорилазы была в ядрах выше, чем в других частях клетки. Активность других ферментов в ядре была того же порядка, что и во всей клетке, и, таким образом, на долю ядра приходилась лишь относительно небольшая часть их общей активности.

Другие исследования, где использовали ядра, обработанные органическими растворителями, показали, что в ряде тканей присутствуют эстераза, фосфатазы и нуклеозидфосфорилаза [609]. Специфические белки, такие, как гемоглобин, миоглобин мышц, аргиназа и панкреатическая липаза, были найдены лишь в ядрах из некоторых тканей. Например, аргиназа, содержание которой в печени млекопитающих и почках птиц является высоким, обнаружена в ядрах печени, но не найдена в ядрах почек. Эстеразы, которые присутствуют в большинстве тканей, были найдены в ядрах лишь из некоторых тканей. Результаты показывают, что ядра дифференцированных тканей также дифференцированы. Кажется весьма вероятным, что ядра должны содержать ферменты, однако многие исследователи высказывали сомнение в достоверности данных, подобных указанным выше, на том основании, что ферменты могли быть адсорбированы на ядрах в процессе их выделения.

Вопрос о содержании в ядрах соединений с низким молекулярным весом, растворимых в воде, очень сходен с таковым в отношении растворимых ферментов. При анализах на Ca^{++} и Mg^{++} ядер из ткани тимуса, выделенных с применением безводных растворителей, были получены соответственно величины 1,35 и 0,08%. Эти величины вдвое или более превышают данные для ткани в целом [692]. Сходным образом в ядрах из сердца быка, выделенных подобным же методом и подвергнутых ферментативному перевариванию, было обнаружено высокое содержание некоторых витаминов [310]. Было найдено, что эти ядра содержат в 3—4 раза больше никотиновой и пантотеновой кислот, рибофлавина, тиамина и фолиевой кислоты на единицу сухого веса по сравнению с тканью в целом. Концентрация пиридоксина была примерно одинаковой в обоих препаратах; в то же время цельная ткань содержала на единицу веса больше биотина и инозита, чем препарат ядер. Общее содержание витаминов было, конечно, гораздо выше в цельной ткани, чем в ядрах.

Нужно еще очень много работать, чтобы изучить химический состав ядер, в особенности в отношении тех веществ, которые имеют значение для метаболической активности этих структур. Ядра содержат свободные аминокислоты примерно в том же количестве, что и цитоплазма, но они, по-видимому, не имеют запаса полисахаридов в качестве источника энергии, а также в них не удастся выявить систему терминальной оксидазы. Несмотря на это, весьма вероятно, что межуточный обмен в значительной степени действительно происходит в ядре и связан с происходящими в нем химическими изменениями.

Химический состав компонентов ядра

Из ядерных структур наибольшее внимание привлекало изучение химического состава хромосом. Это объясняется двумя причинами. Во-первых, как было указано выше, генетическими и цитологическими методами было показано, что гены связаны с хромосомами, и хотя из этого еще не следует, что гены состоят только из веществ, которые могут быть обнаружены, этим все же оправдывается повышенный интерес к хромосомам. Вторая причина — чисто методическая. Химию хромосом изучали более интенсивно, так как имеются соответствующие методы и, наоборот, вследствие более энергичного изучения хромосом лучше разработана методика их исследования. Можно надеяться, что в настоящее время эти усилия будут перенесены и на другие компоненты ядра, поскольку очевидно, что все его структуры играют роль в процессе наследственности.

Данные о химии хромосом получены из наблюдений над живыми клетками при помощи ультрафиолетового микроскопа, из цитохимических анализов фиксированных тканей или изолированных ядер и общего анализа изолированных хромосом. Все исследователи придерживаются единого мнения о том, что хромосомы содержат ДНК, РНК, белок с основными свойствами (гистон или протамин) и фибриллярный белок, содержащий триптофан. Они могут также содержать незначительное количество других веществ. Имеются, например, данные о том, что хромосомы заключены в тонкую мембрану, которая, возможно, по крайней мере частично имеет липидную природу. Кроме того, в них могут присутствовать в значительном количестве ионы неорганических соединений, органические соединения с низким молекулярным весом и даже ферменты. Важно отметить, что весьма незначительное количество вещества может иметь биологическое значение, возможно, лишь несколько тысяч молекул или меньше, что может быть связано с некоторыми процессами функции генов, такими, как получение двух генов из одного.

Структурно хромосома состоит из спирально закрученных нитей с характерными, похожими на бусы, тельцами (хромомерами), расположенными в определенных местах вдоль нити. Хромомеры содержат ДНК в высокой концентрации и белок с основными свойствами. Непрерывность самой нити, по-видимому, зависит от остаточного белка, содержащего триптофан, хотя вдоль всей нити может быть распределено значительное количество ДНК в сочетании с белком с основными свойствами. Положение рибонуклеопротеидных компонентов в хромосомных структурах не совсем ясно, хотя обычно считают, что они сосредоточены в гетерохроматиновых участках вместе с излишком ДНК и белком с основными свойствами. Гетерохроматин — это участок хромосомы, остающийся относительно толстым; поэтому он интенсивно окрашивается и непрозрачен для ультрафиолетовых лучей. Остальные части хромосомы обычно называют эухроматином. Как правило, каждая хромосома

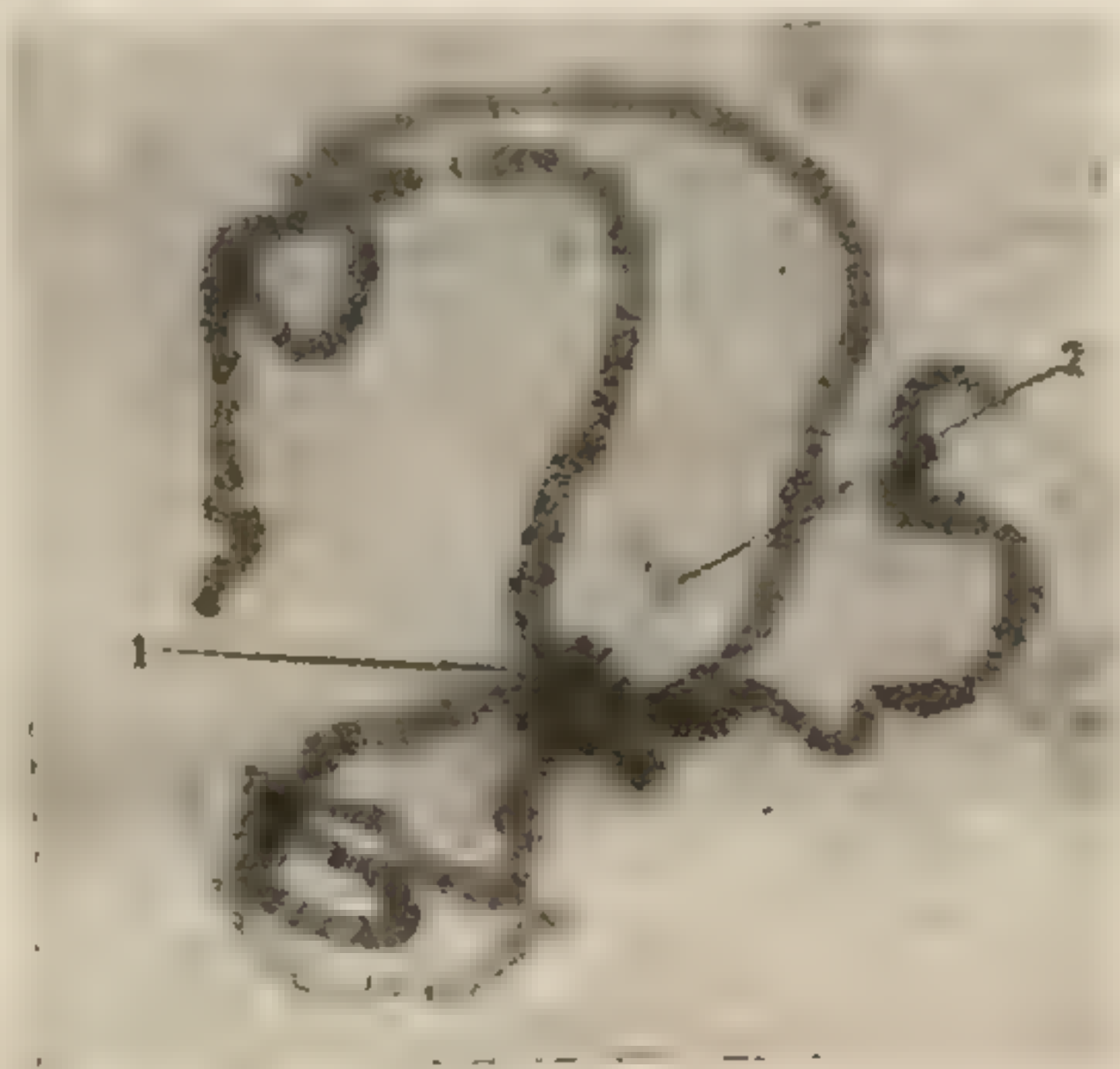
Фиг. 11. Х

Эти хромосомы... и благодаря... такие детали... гих хромосом... рену и не... висок и не... кистей. Х... рание их... емый хром... в этом ра... стей этих х... центром... дны диски, с... 1 — х

из печени при pH 2,8 обра... гиринов. При этом было у... и при наблюдении под м... это не изменился, несм... обработан дезоксири... растворить ДНК. После... ченных нитей из остаточ... сом [414]. Этот опыт д... ема, тогда как при мик... азучаемому под микр... ло света (в ком... чили реакция

имеет определенные характерной величины участки эухроматина и гетерохроматина, расположенные в определенном порядке вдоль ее длины (фиг. 11).

Большое число исследований по идентификации химических компонентов в определенных участках хромосом было проведено методом обработки фиксированных тканей или изолированных хромосом специфическими ферментами или реактивами для экстрагирования специфических веществ. Например, препараты хромосом



Фиг. 11. Хромосомы в клетке слюнной железы *Drosophila virilis*.

Эти хромосомы обнаружены только у двукрылых, и благодаря их гигантскому размеру в них видны такие детали строения, которые не видны в других хромосомах. Необходимо отметить их поперечную исчерченность. Темные диски — это места высокой концентрации дезоксирибонуклеиновой кислоты. Хромосомы соединены друг с другом в районе их центромеров и образуют так называемый хромоцентр. Ядрышко также располагается в этом районе. Главные гетерохроматиновые участки этих хромосом расположены в районе их центромеров. Другие участки, в которых ясно видны диски, состоят в основном из эухроматина.

1 — хромоцентр, 2 — ядрышко.

из печени при pH 2,8 обрабатывали для экстрагирования основных гистонов. При этом было удалено очень небольшое количество ДНК и при наблюдении под микроскопом вид препаратов хромосом заметно не изменился, несмотря на эту потерю белка. Затем материал был обработан дезоксирибонуклеазой, чтобы деполимеризовать и растворить ДНК. После этого осталась масса нерастворимых скрученных нитей из остаточного белка, но они не имели уже вида хромосом [414]. Этот опыт дает общее представление о структуре хромосомы, тогда как применение подобных же принципов к материалу, изучаемому под микроскопом с применением ультрафиолета и видимого света (в комбинации со специфическим окрашиванием и цветными реакциями), дает представление о деталях [324, 407].

Ядрышки — это структуры, имеющие более или менее сферическую форму, которые можно наблюдать в большинстве ядер на некоторых стадиях ядерного цикла. Они возникают в определенных местах образующих их хромосом, но затем могут отделиться от них. Ядрышки содержат рибонуклеопротеид в высокой концентрации; они заключены в эластичную оболочку, которая, возможно, по крайней мере частично имеет липидную природу. Они могут содержать ферменты и другие вещества, образующиеся в результате процессов обмена, но об этом имеется мало данных.

Во время клеточного деления хромосомы раздвигаются к противоположным полюсам клетки, видимо, путем сокращения нитей веретена.

Физическое существование этих нитей твердо установлено. В настоящее время хорошо известно, что они белковой природы, так как они были выделены из дробящихся яиц морского ежа и химически охарактеризованы Мэзия и Дэном [408]. Эти нити прикрепляются к хромосомам в определенных местах, называемых центромерами, которые часто можно цитологически отличить от других частей хромосомы. Обычно каждая хромосома имеет один центромер, но известны случаи, когда их несколько или центромер диффузно распределен по длине хромосомы. Имеются данные о том, что белок нитей веретена богат сульфгидрильными группами [408], что говорит в пользу теории Рапкина [408], полагающего, что сокращение этих нитей связано с окислением сульфгидрильных групп и образованием дисульфидных связей, что приводит к укорочению белковых нитей.

Все ядерные структуры лежат в жидкости, состав которой пока неизвестен, а ядро в целом заключено в ядерную оболочку, состоящую из белков и фосфолипидов. Природа этих веществ, а также их проницаемость не изучены, что уже было указано выше. Имеются достоверные данные о том, что ядерная оболочка в яйце амфибий состоит из двойного слоя, причем внутренний слой — сплошной и состоит из белков или липопротеидов, а внешний — пористый и в основном липидный [433].

Химические изменения в период ядерного цикла

Описание химического состава ядра или его оформленных компонентов в любой момент времени может служить лишь кратким введением в понимание функций ядра. Несколько больше можно почерпнуть из наблюдений над химическими изменениями, происходящими в период ядерного цикла, но все это может служить лишь первой ступенью для вскрытия тех химических процессов, при помощи которых компоненты ядра контролируют процессы детерминации.

Совершенно ясно, что во время митотического и мейотического клеточных делений должны происходить изменения химического состава ядер. Изменяется размер ядер, хромосомы удлиняются и

затем снова сжимаются, ядрышки образуются и распадаются, формируются и исчезают нити веретена. В ходе этих процессов и в промежутках между ними должны поступать из каких-либо источников материалы, необходимые для образования новых ядер, и весьма вероятно, что они мобилизуются с различной скоростью. Возможно даже, что относительная скорость мобилизации ядерных материалов оказывает контролирующее влияние на процессы деления ядра. Эти необходимые материалы — остаточный белок, основные белки, РНК и липиды — могут быть синтезированы в ядре либо же они могут образоваться целиком или частично вне ядра в окружающей его цитоплазме. На основании исследований методом микроспектрофотометрии получены данные о том, что РНК образуется в ядрышке [552]. Опыты с мечеными атомами, выявившие большую скорость кругооборота фосфора РНК ядра по сравнению с фосфором РНК цитоплазмы, можно истолковать подобным же образом. Что касается ДНК и любых белковых компонентов ядра или других веществ, специфичных для хромосом, то ясно, что должны происходить изменения их концентрации во время деления хромосом или до него. Имеются некоторые данные в пользу того, что предшественники ДНК мобилизуются во время интерфазы [550], но твердо это еще не установлено.

Очень важное явление, происходящее при делении большинства клеток, — это исчезновение ядерной оболочки. Трудно сказать, растворяется ли она полностью, но этот процесс приводит к более тесному взаимодействию ядерной и цитоплазматической синтетических систем, чем это возможно при наличии цельной оболочки. Когда ядро находится в стадии интерфазы, оболочка присутствует, но хромосомы в это время не видны. Однако ясно, что они присутствуют. Имеются данные о том, что они в это время разбухают и, таким образом, делаются диффузными [516].

Многие экспериментальные данные, полученные в этой области, противоречивы, так как выводы иногда делаются на основе применения той или иной методики. Все результаты необходимо пересмотреть на основе тщательного анализа экспериментальных методов. Это говорится здесь лишь в виде предостережения новичкам, а не в качестве критического замечания, направленного на попытки анализа, сделанные в области, изучение которой методически весьма трудно даже для самого искусного химика.

ЦИТОПЛАЗМА И ЯДРО

Легкость, с которой ядро цитологически удается отличить от цитоплазмы, и относительная легкость, с которой удается механически отделить их друг от друга, позволили детально изучить ядро и цитоплазму в отдельности и установить ряд заметных различий. Суммируя, можно перечислить следующие отличия ядра от цитоплазмы: 1) по характеру входящих в них структурных компонентов, 2) по ферментативным свойствам, 3) по распре-

лению в них РНК и ДНК, 4) по механизму их разделения во время клеточного деления, 5) по степени их связи с внешней для клетки средой.

Различия в структурных компонентах, входящих в состав ядра и цитоплазмы, в значительной степени обуславливают и их ферментативные особенности. Хотя многие ферменты, по-видимому, имеются и в ядре и в цитоплазме, дыхательные ферменты, например, необходимые для освобождения химической энергии для клеточных процессов с использованием кислорода, обнаружены только в цитоплазме и связаны с митохондриями. Удаление ядра из клетки обычно не оказывает влияния на ее дыхание; дыхания также не было обнаружено в изолированных ядрах.

Конечно, для ядра известно не такое количество ферментов, как для цитоплазмы, но это не значит, что ядро по сравнению с цитоплазмой обладает меньшей ферментативной активностью. Необходимо подчеркнуть, что фермент можно обнаружить лишь по его активности. А активность можно определить, лишь зная, какой нужен субстрат. Отсутствие этих данных приводит к тому, что фермент не удается обнаружить.

Значительные различия в распределении нуклеиновых кислот, по-видимому, имеют большое значение для роли, выполняемой цитоплазмой и ядром. Рибонуклеиновая кислота, по-видимому, связана лишь с микросомами цитоплазмы, но она может быть обнаружена в хромосомах, ядрышках, ядерном соке или нитях веретена; ее точное распределение главным образом зависит от стадии митотического цикла. ДНК в цитоплазме обнаруживали так редко, что ее присутствие обычно считают случайностью, артефактом или результатом неправильных взглядов некоторых лиц. Теории, поддерживаемые некоторыми данными, приписывают рибонуклеиновой кислоте роль в синтезе белка [69, 585] и дезоксирибонуклеиновой кислоте менее ясную роль вещества, обеспечивающего биологическую специфичность клетки, т. е. химической основы генов. Было высказано предположение, что рибонуклеиновая и дезоксирибонуклеиновая кислоты синтезируются друг из друга [550]. Данных в пользу этого мало, а прямых доказательств не существует. Если это будет доказано, то это явится важным свидетельством в пользу наличия обмена весьма существенными материалами между ядром и цитоплазмой.

Одним из наиболее важных различий между ядром и цитоплазмой являются ярко выраженные циклические изменения ядра, в процессе которых хромосомы удваиваются и поровну расходятся в дочерние клетки, тогда как состояние цитоплазмы относительно стабильно, а при ее делении, по-видимому, не имеется аппарата, который обеспечил бы точное распределение ее частей. Весьма возможно, что ядро — это единственная часть клетки, которая должна быть распределена поровну, чтобы поддержать биологическую преемственность, но из этого не следует, что цитоплазма не имеет значения или что неравномерное в качественном отношении разделение ее частей всегда возможно или является правилом (см. гл. XI).

Ядро и цитоплазма, без сомнения, представляют собой две различные метаболические системы, постоянно отделенные друг от друга ядерной оболочкой, за исключением коротких интервалов в период митоза. Однако, безусловно, они не являются независимыми системами. Живая клетка, чтобы жить и размножаться, должна обладать обеими частями. Хотя удаление ядра из клетки не всегда приводит к ее немедленной смерти, однако без него клетка не в состоянии ни делиться, ни дифференцироваться. Тот факт, что известная степень дифференцировки возможна без клеточного деления в яйцах, содержащих ядра, говорит о том, что присутствие ядра необходимо для дифференцировки. С другой стороны, ядра, полностью лишенные цитоплазмы, неспособны создать цитоплазму *de novo* или делиться. Живой системой является целая клетка, так как это наиболее мелкая единица, способная воспроизводить жизнь, и очень важно подчеркнуть, что выражение наследственных признаков, которое обсуждается в последующих главах, осуществляется через активность клеток, а не только генов, которые представляют собой часть клеток.

Глава III

МУТАЦИИ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МУТАЦИИ

Мутация — происходящее в клетке явление, которое приводит к появлению наследственных изменений. Изменение это может обусловить появление нового фенотипа или же выражается лишь в видимых структурных изменениях хромосом или других наследуемых внутриклеточных частиц.

Термином мутация обозначают любое наследственное изменение, если оно возникает независимо от расщепления при скрещивании или нормальной рекомбинации неизменившегося наследственного материала, происходящей у организмов, размножающихся половым путем. Этот термин нельзя применять к ненаследственным модификациям, возникающим под влиянием внешних условий, которые будут обсуждаться в гл. X.

Способность мутировать — такая же важная особенность генетического материала, как и его устойчивость. Мутации возникают у всех организмов и являются основным источником всей наследственной природной изменчивости. Поэтому здесь будет рассмотрен процесс возникновения мутаций и его результаты довольно подробно, причем особое внимание будет уделено тем сторонам вопроса, которые по общему признанию имеют отношение к природе генов и хромосом. Будут рассмотрены лишь те мутации, которые дают менделевский тип наследования. Цитоплазматическая наследственность будет обсуждаться в гл. XI.

Точное доказательство появления хромосомной мутации возможно лишь у организмов с половой фазой. Однако наследственные изменения, которые могут быть связаны с хромосомами, происходят также у организмов, размножающихся бесполом путем, а кроме того, и в соматических клетках многоклеточных организмов. Иногда, если мутация переносится в зародышевые клетки, удается доказать, что соматические мутации связаны с хромосомами, но у бактерий и грибов, размножающихся лишь бесполом путем, о хромосомной природе мутаций можно судить лишь по аналогии с результатами, получаемыми у организмов с половым циклом.

Обнаружение мутаций у одноклеточных видов, размножающихся бесполом путем, и в some высших форм представляет собой убедительное доказательство того, что процесс мутирования связан с основным типом изменчивости, неэквивалентным расщеплению,

Мутации выявляют п...
ских изменений или вид...
рые либо сопровождаю...
ким эффектом, либо...
деляют на морфологи...
мутанты, часто называ...
физиологические измен...
выявляемый тип мута...
в генетических иссл...
могут выявляться фе...
прекращаются, и на...
являются в изменени...
материалов, или же...
ствах, что может и...
жизни.

Кроме мутаций...
ния, вероятно, п...
изменений, обнару...
слабо выражены и...
либо не разраб...
относительно незначител...
мутации, которые...
возникновения...
ный ген и...

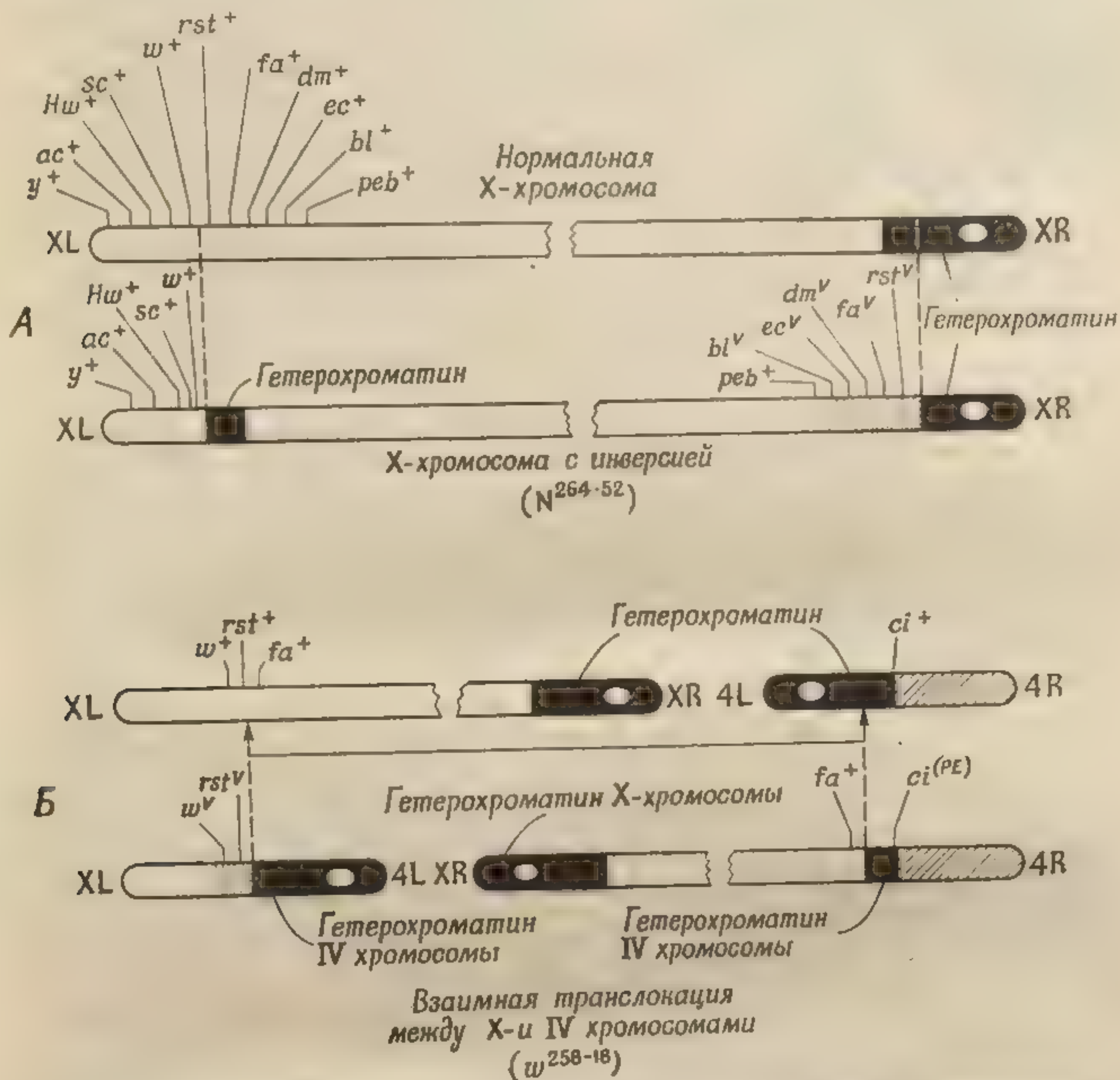
обусловленному независимым распределением хромосом и их перекрестом в результате полового размножения. Появление мутаций у организмов с половым процессом можно доказать в опытах с изогенными линиями (в которых все особи полностью гомозиготны по одним и тем же генам). В этих опытах изогенная линия охраняется от любого возможного засорения и в течение ряда поколений над ней просто ведут наблюдения, чтобы выявить любые наследственные изменения. Ист [155], проводивший подобный опыт с табаком *Nicotiana rustica*, обнаружил, что через определенный промежуток времени гомозиготная популяция табака постепенно приобрела нормальную степень изменчивости, наблюдаемую в природных инбридируемых популяциях. Линдстром [381], имея гаплоидную линию томатов, у которой было удвоено число хромосом для получения диплоида, получил таким образом полностью гомозиготную линию, над которой он вел тщательные наблюдения в течение 10 лет. В противоположность Исту Линдстром обнаружил у диплоидных линий томатов высокую степень стабильности; несмотря на это, спонтанные изменения возникали, и они могли быть лишь результатом изменения генетического материала хромосом, поскольку никакой исходной изменчивости в этой линии не было, а все возникающие изменения наследовались по законам Менделя.

Обнаружение мутаций

Мутации выявляют по появлению наследственных фенотипических изменений или видимых изменений в строении хромосом, которые либо сопровождаются каким-либо измеримым фенотипическим эффектом, либо нет. Мутантные фенотипы обычно разделяют на морфологические и физиологические. Морфологические мутанты, часто называемые видимыми, в основе своей также имеют физиологические изменения. Видимые мутации — это наиболее легко выявляемый тип мутаций, и поэтому они чаще других используются в генетических исследованиях. Чисто физиологические мутации могут выявляться фенотипически, как летальные: развитие и рост прекращаются, и наступает ранняя гибель. Они могут также проявиться в изменении химического состава тканей или экскретируемых материалов, или же изменяются потребности в питательных веществах, что может и не оказывать заметного влияния на длительность жизни.

Кроме мутаций, обнаруживаемых по фенотипическим изменениям, вероятно, происходит большое количество наследственных изменений, обнаружить которые не удастся либо потому, что они слабо выражены и незаметны из-за приспособляемости организмов, либо не разработаны методы их выявления. К этой категории можно отнести незначительные химические изменения. Кроме того, имеются мутации, которые нельзя обнаружить через короткий срок после их возникновения. Как это будет видно из обсуждения в гл. X, мутантный ген иногда может не оказывать явного влияния на фенотип, до

само по себе дало бы новый фенотип. По этой причине подобные изменения отличают от генных мутаций, которые являются по своей природе *внутригенными* изменениями.



Фиг. 13. Типы хромосомных перестроек, дающие эффект положения мозаичного типа [371].

А — эффект положения мозаичного типа, связанный с инверсией в X-хромосоме; Б — эффект положения мозаичного типа, связанный с транслокацией между нормальной X- и IV хромосомами.

У дрозофилы транслокации и инверсии часто приводят к нестойкости выражения в соматических тканях некоторых генов, перемещенных в результате перестройки в другой район хромосомы. Эта нестойкость обычно выражается в мозаичности, т. е. в некоторых клетках проявляется мутантный признак, тогда как другие, расположенные рядом, кажутся нормальными. Поскольку подобная мозаичность развивается в результате изменения положения генов в хромосоме по отношению друг к другу, это явление было названо Льюисом [371] эффектом положения мозаичного типа (V-тип). На фиг. 13 изображена инверсия в X-хромосоме и транслокация между

X- и IV хромосомами, которые дают эффект положения мозаичного типа. В инверсии (N^{264-52}) гены дикого типа rst^+ , fa^+ , dm^+ , ec^- , bl^- и reb^+ были перенесены на правый конец X-хромосомы и расположены на этом конце близ гетерохроматина. Пять из них дают фенотипическое выражение мозаичного типа, тогда как выражение гена reb^+ , расположенного дальше других от гетерохроматина, по-видимому, не изменилось. Из-за транслокации X-IV— W^{258-18} гены w^+ и rst^- перенесены в близкое соседство к гетерохроматину левого плеча IV хромосомы, и при этом наблюдается нестойкое выражение обоих генов.

Во всех этих примерах мозаичности трудно определить, мутируют ли гены в некоторых соматических клетках, что приводит к появлению мутантного фенотипа, или же их выражение изменяется благодаря другим причинам. Имеется тесная связь между возникновением мозаичности и расположением перемещенных генов близ гетерохроматина, однако нельзя настаивать на том, что локализация около гетерохроматина необходима для того, чтобы вызвать мозаичность [231], а также что все гены, перемещенные в необычное положение по соседству с гетерохроматином, реагируют на это нестойким выражением.

Поскольку хромосомные перестройки, дающие эффект положения, почти всегда возникают под воздействием излучений, таких, как рентгеновские лучи, не исключена возможность того, что мутантный эффект обуславливается не только перемещением гена, но также изменением его структуры независимо от перестройки. Доказательством, по крайней мере в некоторых перестройках, дающих эффект положения, что это не так, послужило перемещение при помощи перекреста известных $+$ аллелей в транслокацию с возникновением эффекта положения мозаичного типа [152]. Более того, известно, что эффект положения можно уничтожить и восстановить нормальную функцию гена дальнейшими перестройками.

Так, фенотип *roughest* (rst^3), связанный с инверсией, может быть возвращен к нормальному rst^+ , если инвертированный участок хромосомы вернуть в нормальное положение [167, 234].

Обычно эффект положения исчезает, если гены, перенесенные путем перестройки к гетерохроматину, благодаря новой перестройке перемещаются в эухроматиновый участок [371, 735].

Эффект положения мозаичного типа был описан также у *Oenothera lundiniana* Кэтчесайдом [97, 98]. Лишь у этих двух организмов (энотеры и дрозофилы) был обнаружен эффект положения данного типа, связанный с перестройками. Однако возможно, что этот эффект распространен гораздо шире, чем мы думаем в настоящее время, и представляет собой важный источник изменчивости.

Кроме возникновения мозаичных фенотипов, перестройки, связанные с инверсиями и транслокациями, могут давать также летальный эффект и вызывать стерильность у *Drosophila melanogaster* [448]. Перестройки, захватывающие IV хромосому (см. фиг. 13), часто влияют на выражение гена ci^+ , связанного с развитием нормального

жилкования крыла. Если в гетерохроматине вблизи гена ci^+ возникает разрыв и происходит транслокация, то ген ci^+ реагирует на это, давая в гетерозиготе с мутантным аллелем ci мутантный фенотип. В нормальных условиях ci^+ доминирует над ci (см. гл. VIII).

Обнаруживаемые с помощью цитологических методов нехватки в хромосомах всегда дают «видимые» мутации или летальный эффект. Некоторые из них в гетерозиготном состоянии приводят к развитию доминантного мутантного фенотипа, а в гомозиготном состоянии летальны. В очень редких случаях явные нехватки жизнеспособны в гомозиготном состоянии и вызывают развитие рецессивного мутантного фенотипа (см. гл. IX). С другой стороны, дубликации отдельных генов или групп генов могут давать летальный эффект или приводят к развитию мутантного фенотипа.

Генные и хромосомные мутации

Подводя итог, можно сказать следующее: 1) мутация, сопровождающаяся фенотипическим эффектом, может быть внутригенной (точечная или генная мутация); 2) она может быть выражена в видимых структурных изменениях хромосом, таких, как потеря или дубликация генетического материала; 3) или может быть связана с изменением положения гена, вызывающим эффект положения, который представляет собой внегенное изменение. Обычно провести достаточно ясное разграничение между этими явлениями имеющимися в настоящее время методами не удастся. Это, в частности, относится к используемым в генетических экспериментах птицам, млекопитающим, грибам и бактериям, так как их хромосомы мало удобны для цитологического анализа. У таких организмов, как дрозофила и кукуруза, в некоторых клетках имеются достаточно крупные хромосомы для детального микроскопического анализа возможных структурных изменений; однако и в этом случае остается неуверенность, произошла ли внутригенная или внегенная мутация или образовалась нехватка, так как многие мелкие перестройки или утери материала хромосом могут лежать за пределами возможности их выявления даже в этих относительно крупных хромосомах. Таким образом, мы можем лишь допускать, что мутация представляет собой внутригенное изменение, если не наблюдается заметных хромосомных перестроек и если изменение наследуется по простым менделевским законам. Это важное обстоятельство было в свое время отмечено Стадлером [596]: «Мутации, при которых возникновение нового фенотипа обусловлено мутацией гена (т. е. возникновением новой формы гена), не удастся отличить от внегенных мутаций при помощи каких-либо объективных критериев. Поэтому все наблюдаемые генные мутации носят в какой-то степени предположительный характер; мы можем лишь сказать, что, по-видимому, в данном случае возник новый аллель, поскольку мы не можем обнаружить какого-либо внегенного явления, которое могло бы быть ответственным за наблюдаемый мутантный эффект».

Значение подобных затруднений при определении структурной основы мутаций, наследуемых как менделевские факторы, становится особенно ясным, если учесть, что наши знания менделевской генетики и представления о менделевских генах основаны на изучении мутаций. О наличии гена узнают лишь потому, что он имеет форму другого аллеля, дающего иной фенотип. О действии гена, приводящем к развитию какого-либо фенотипа, делается заключение из сравнения с противоположным фенотипом. На основе опытов ген определяют как участок хромосомы, претерпевающий изменение или мутацию, способный к воспроизведению, причем этот участок не может быть разделен перекрестом на части, различимые цитологически или фенотипически. Мы можем быть уверены, что мутация — это химический процесс, происходящий в хромосоме. Но если это химическое изменение может быть перестройкой, утерей, дупликацией или невидимым «внутригенным» изменением в определенном участке хромосомы, то как можно дать точное определение термина «ген»? Эти трудности заставили некоторых генетиков, например Гольдшмидта [211], сомневаться в существовании генов вообще. Однако Стертевант убедительно утверждал [627]: «Невозможно обсуждать эти вопросы без употребления слова «ген» или не заменяя его другим термином, имеющим то же значение. Нельзя отрицать, что хромосомы дифференцированы по длине как физиологически, так и морфологически, что видно под микроскопом; что конкретные, идентифицируемые участки необходимы для протекания определенных реакций в организме и, наконец, что эти конкретные участки ведут себя как единицы при наследовании, в частности при перекресте».

ЧАСТОТА МУТАЦИЙ

Изучение мутационного процесса часто ограничивается: 1) регистрацией типов видимых структурных перестроек хромосом; 2) наблюдением над изменениями фенотипов; 3) определением частоты, с которой мутации возникают при различных условиях. До сих пор нет еще методов изучения этой проблемы на уровне химии хромосом, и исследователь должен ограничиваться более косвенными подходами. Один из наиболее существенных вопросов — это изучение частоты мутаций и факторов, влияющих на нее, в частности повышающих частоту нормального или спонтанного возникновения мутаций.

Для изучения частоты мутаций определенных генов подходящим организмом оказался плесневый гриб *Neurospora* [196, 333]. При этом применяли простую методику учета обратных мутаций мутантного гена к его нормальному аллеломорфу. Частота обратных мутаций в одном локусе достаточно низка, но поскольку можно вести наблюдения над большим числом конидий гриба, что составляет несколько миллионов в одном опыте, то можно получить довольно точное представление об истинной частоте мутаций от мутантного

гена к аллеломорфу, дающему нормальный фенотип. Затем можно поставить опыты по скрещиванию, чтобы подтвердить аллелизм гена, определяющего нормальный признак, и мутантного гена.

Поскольку учесть все мутации, происходящие у какого-либо организма, невозможно, то общую частоту всех мутаций определить не удастся. Количественное изучение можно производить, пользуясь методом, описанным выше, определяя частоту мутаций какого-нибудь определенного гена или частоту возникновения какого-либо класса мутаций. Пожалуй, наилучший метод определения частоты определенного класса мутаций — это методы CIB или «Muller-5», применяемые для выявления леталей в X-хромосоме *Drosophila melanogaster* [580]. Эти методы дают возможность быстро и точно учесть число X-хромосом спермиев, несущих рецессивные летальные мутации. Хотя эти методы дают возможность очень точно учитывать, с какой частотой гены X-хромосомы мутируют к летальному состоянию, однако необходимо помнить, что летали не представляют собой гомогенного класса. Они могут возникать в результате точечных мутаций, нехваток, крупных хромосомных перестроек, а также перестроек, приводящих к эффекту положения.

Другой метод выявления мутаций или изменений, приводящих к их появлению, — это прямое изучение разрывов и перестроек хромосом под микроскопом. При изучении большого количества клеток можно определить частоту их возникновения. Лучше всего исследовать хромосомные разрывы и перестройки у организмов с крупными, хорошо окрашивающимися хромосомами: дрозофилы, прямокрылого *Chortophaga*, у растений: традесканции, кукурузы. Традесканцию можно использовать для определения числа хромосомных разрывов вскоре после их возникновения с такой точностью, которая недоступна ни на дрозофиле, ни на кукурузе. Это связано с тем, что хромосомы легко изучать в пыльце во время деления ядра. Можно изучать типы хромосомных перестроек, возникающих до или во время деления даже в том случае, когда они затем попадают в ядра, неспособные дать жизнеспособное потомство.

Мутации и фактор времени

Следует ожидать, что количество мутаций, накапливающихся в клетке, будет пропорционально ее возрасту. Это было подтверждено опытами с пыльцой и семенами растений, а также спермиями дрозофилы. В семенах растений, хранившихся в течение длительного периода времени, наблюдалось значительное повышение числа накопившихся мутаций по сравнению с недавно собранными семенами [91, 623, 624]. Штуббе [624], например, обнаружил возрастание процента рецессивных мутаций у львиного зева *Antirrhinum majus* с 1,5 до 14%, если растения выращивали из семян, хранившихся в течение 5—10 лет. Старение спермиев дрозофилы в организме самца или в семеприемниках самки приводит к возрастанию числа летальных мутаций в X-хромосоме, как это показано в табл. 1.

Таблица 1

Частота спонтанных, сцепленных с полом леталей в молодых и старых спермиях *Drosophila melanogaster*

Молодые спермии			Спермии, хранившиеся 15—20 дней			
Количество в опыте	Количество леталей	Летали, %	Количество в опыте	Количество леталей	Летали, %	Литература
9 751*	10	0,102	8 637	21	0,243	[650]
13 481*	14	0,104	18 659	49	0,263	[501]
3 545**	5	0,141	3 471	11	0,317	[322]

*Сохранялись в самце.
 **Сохранялись в самке.

Хотя эти данные ясно показывают, что мутации накапливаются с течением времени, но это не означает, что мутации обязательно возникают все время с одинаковой частотой. Оленов [739] показал, что если дрозофил разводить на «голодной» питательной среде, на которой период развития удлиняется с 10 дней (наблюдаемых на полной питательной среде) до 30 дней, то у них в спермиях обнаруживается примерно такое же количество X-хромосом с летальными мутациями, как и у самцов с более коротким периодом развития. Наиболее простое объяснение этих факторов, по-видимому, состоит в том, что возникновение мутаций зависит от физиологических факторов и что мутации — не чисто случайные явления, которые происходят независимо от факторов внутренней среды. Меллер [446] и Лэми [337] приводят экспериментальные данные, подтверждающие эту гипотезу. Они обнаружили, что частота сцепленных с полом летальных мутаций у дрозофилы различна на разных стадиях развития половых клеток. Например, в спермиях, накопившихся в течение предимагинальной жизни самца, наблюдается частота мутаций, в 2—3 раза превосходящая таковую, наблюдаемую на 6—9 дней позже. В соответствии с результатами, приведенными в табл. 1, Меллер обнаружил, что частота мутаций значительно возрастает в спермиях, хранившихся в семеприемниках самки, а так же, возможно, при их сохранении у взрослых самцов, но это увеличение недостаточно, чтобы объяснить высокую частоту мутаций, наблюдаемую у очень молодых самцов. При исследовании на летали X-хромосом самок была обнаружена почти постоянная частота леталей независимо от возраста родителей. Это показывает, что мутации возникают у самок лишь в предимагинальный период жизни. На основании этих данных Меллер [446] делает вывод, что большая часть мутаций, особенно у самок, возникает на некоторых определенных стадиях развития, даже таких, как ранние стадии дробления.

Очевидно, что по крайней мере у дрозофилы частота мутирования во всех клетках организма в течение его жизненного цикла не-

...при этом в ...
 ...как ...
 ...в течение ...
 ...одного поколения ...
 ...в настоящее время ...
 ...по этому вопросу ...
 ...различными ...
 ...Например, ...
 ...палочки частоты ...
 ...не зависит от продол ...
 ...показали, что в услов ...
 ...коление — величина не ...
 ...абсолютной д ...
 ...мутаций для поколения с ...
 ...поколения с длительност ...
 ...таковой для поколения ...
 ...ложность этому Замено ...
 ...терий существование ...
 ...мутаций и числом клето

«Нормальная» част ...
 ...естественных условия ...
 ...тами или условиями ...
 ...высокой мощности и ...
 ...случаев такую частот ...
 ...из этого вовсе не сл ...
 ...шенно независимо ...
 ...ческому материалу ...
 ...танных мутаций яв ...
 ...ций в естественной ...
 ...частота мутаций н ...
 ...о частоте мутаций ...
 ...всех генов генома. ...
 ...одного гена равна ...
 ...в любом клеточном ...
 ...Таким образом, ...
 ...ное явление. С др ...
 ...организма составл ...
 ...30, если учиты ...
 ...спонтанных ...
 ...ских ге ...
 ...иска ...
 ...с

постоянна, причем она варьирует не только от одной стадии развития к другой, но и в пределах одной стадии. Ясно также, что употребляемый генетиками термин «частота мутаций» лучше всего рассматривать как число мутаций на одно поколение, если только экспериментальные условия не таковы, чтобы можно было учесть частоту мутаций в течение определенного периода развития в пределах одного поколения.

В настоящее время очень трудно сделать какие-либо общие выводы по этому вопросу с известной степенью достоверности, поскольку различными исследователями получены противоречивые результаты. Например, Новик и Сцилард [458] обнаружили, что у кишечной палочки частота мутаций устойчивости к фагу совершенно не зависит от продолжительности генерации. В своих опытах они показали, что в условиях эксперимента количество мутаций на поколение — величина непостоянная; она увеличивается пропорционально абсолютной длине промежутка времени. Так, частота мутаций для поколения с длительностью 12 час. в 6 раз выше, а для поколения с длительностью 6 час. — в 3 раза выше по сравнению с таковой для поколения с длительностью 2 часа [458]. В противоположность этому Заменофф [721] и другие [700] обнаружили у бактерий существование определенной корреляции между частотой мутаций и числом клеточных делений.

Спонтанные мутации

«Нормальная» частота мутаций — это частота, наблюдаемая в естественных условиях без воздействия необычными внешними агентами или условиями, такими, как крайние температуры, излучения высокой мощности и необычные химические факторы. В большинстве случаев такую частоту называют частотой спонтанных мутаций, хотя из этого вовсе не следует, что спонтанные мутации возникают совершенно независимо от условий, внешних по отношению к генетическому материалу, в котором происходят мутации. Частота спонтанных мутаций является известным приближением к частоте мутаций в естественной популяции организмов. Считается, что обычно частота мутаций низка, однако нужно уточнить, о чем идет речь: о частоте мутаций определенного гена или общей частоте мутаций всех генов генома. Согласно Меллеру [447], средняя частота мутаций одного гена равна примерно от 1 на 100 000 до 1 на 1 000 000 клеток в любом клеточном цикле (поколении) у *Drosophila melanogaster*.

Таким образом, для отдельного гена мутация представляет редкое явление. С другой стороны, общая частота мутаций для этого организма составляет, возможно, от 1 мутации на 10 гамет до 1 на 30, если учитывать все гены и все возможные мутации [449]. Частота спонтанных мутаций была определена для нескольких специфических генов у ряда организмов, и хотя данные недостаточны, они ясно показывают, что не все гены одного вида мутируют с одинаковой скоростью (табл. 2).

Таблица 2

Частота спонтанных мутаций определенных локусов

Организм	Мутация	Число изученных гамет	Частота на 10 000	Литература
Кукуруза	Wx → wx	1 503 744	0,000	[593]
	Pr → pr	647 102	0,11	[593]
	Sh → sh	2 469 285	0,012	[593]
	Su → su	1 678 731	0,024	[593]
Колумбийская линия	I → i	265 391	1,06	[593]
	R ^r → r ^r	20 984	6,2	[594]
Корнельская линия	R ^r → r ^r	43 416	18,2	[595]
<i>D. melanogaster</i> ...	+ → prune, white, ruby, carmine, singed, raspberry, vermillion, garnet, forked	60 000	0,3	[451]
	+ → cut	60 000	(в среднем) 1,5	[451]
	+ → yellow	70 000	0,29	[312]
	+ → white	70 000	0,29	[312]
	+ → lozenge	70 000	0,29	[312]
Человек	Гемофилия		0,32	[252]
	Хондродистрофия		0,427	[492]
	Ретинобластома		0,23	[738]
<i>Prunus avium</i>	Несовместимость Гены S _x и т. д. в S _y и т. д.	60 000	0,003—0,023	[368]

Более того, общая средняя скорость различна для разных видов и может варьировать внутри разных популяций одного вида. По-видимому, мутабельность варьирует в очень широких пределах, начиная от генов, мутирования которых наблюдать не удавалось, до таких, которые мутируют с очень высокой частотой.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЧАСТОТУ СПОНТАННЫХ МУТАЦИЙ

Давно было известно, что у лабораторных линий *Drosophila melanogaster*, собранных в разных местах, наблюдается различная частота мутирования [366, 442, 450]. В табл. 3 приведен список некоторых линий, которые были проанализированы на летальные мутации, в частности на рецессивные мутации, сцепленные с полом. Интересно отметить, что частота возникновения сцепленных с полом летальных мутаций варьирует от такой низкой цифры, как 0,07% в линии Орегон R, до такой высокой, как 1,09% в линии Флорида.

Спонтанные мутации в культуре

Линия

Флорида, инбредная
Вустер
Орегон R
Флорида № 10
Лозанна
Ленинград
Сухуми

Пожалуй, трудно над час и Мак-Клинто подтвердили частота мутаций генов, но дальнейшим анализом, к спонтанным мутациям. Родс обнаружил, что в обычных условиях частота мутаций в линии Флорида была 1,09%, а в линии Орегон R — 0,07%.

В данном случае частота мутаций повышена, по-видимому, во всех хромосомах, так как в линии Флорида высокая частота мутаций обнаружена как в X-хромосоме, так и в II хромосоме по сравнению с несколько более низкой частотой, наблюдаемой в линии Лозанна. Несколько высокомутабельных линий было проанализировано подробно. Демерек [136] провел генетический анализ флоридской линии и выяснил, что рецессивный фактор (μ -F) II хромосомы ответствен за высокую частоту мутирования (1,09%) в этой линии. Выведение этого фактора из данной линии снизило частоту летальных мутаций до 0,074%, что почти в 15 раз ниже частоты мутирования в линии, гомозиготной по вышеупомянутому фактору. Сходные гены-мутаторы были описаны у *D. melanogaster* Нилом [452] и Айвесом [312], а у *D. persimilis* — Мампеллом [400]. Влияние генов-мутаторов можно выявить, потому что они приводят не только к появлению большего числа летальных мутаций, но увеличивают также количество видимых мутаций.

Таблица 3

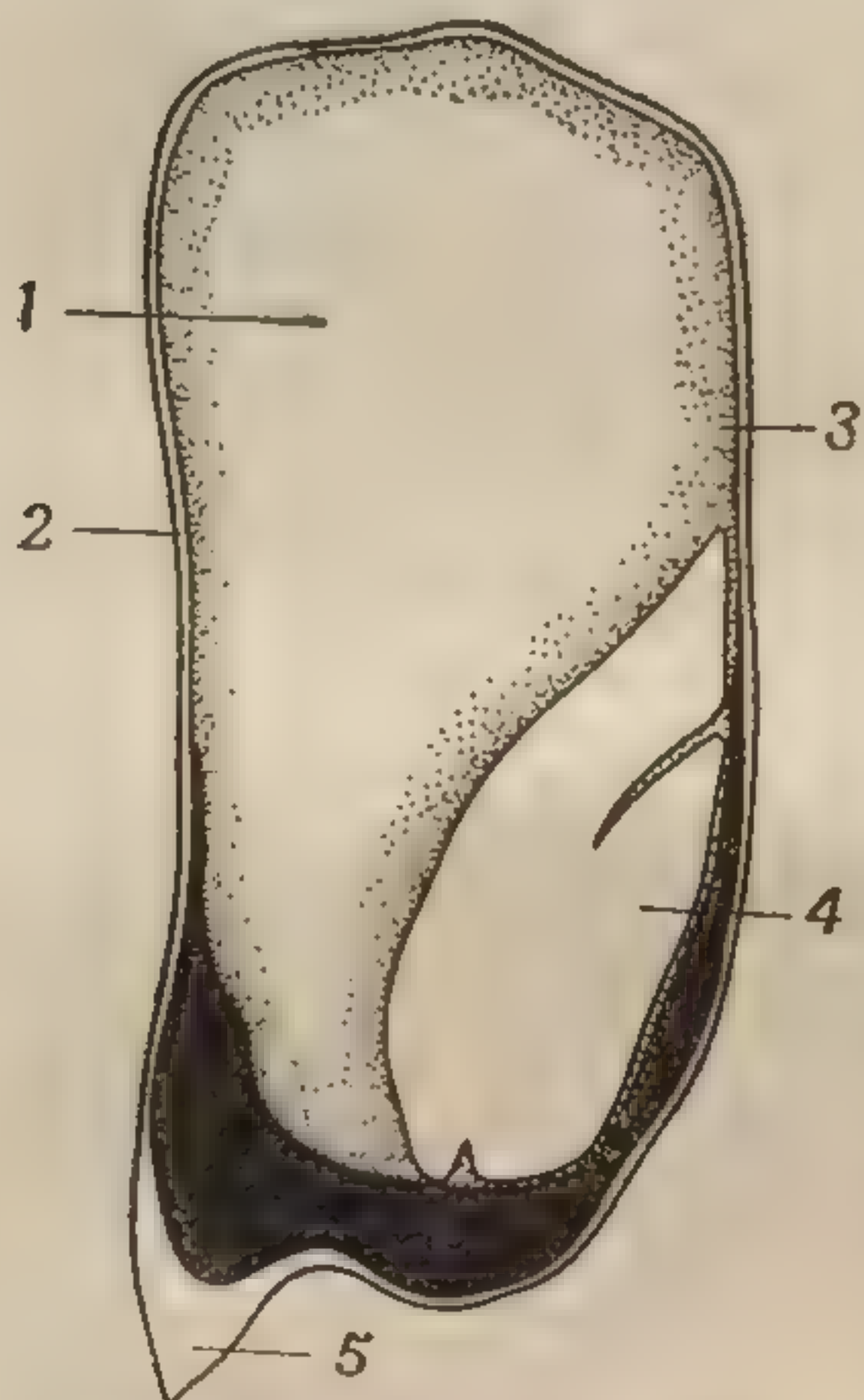
Спонтанные мутации в разных линиях *D. melanogaster*
культуры которых содержались при 22—25°

Линия	Рецессивные летали II хромосомы и летали, сцепленные с полом						Литература
	X-хромосома			II хромосома			
	количество в опыте	число леталей	летали, %	количество в опыте	число леталей	летали, %	
Флорида, инбредная ...	2108	23	1,09	—	—	—	[136]
Вустер	1266	8	0,63	—	—	—	[136]
Орегон R	3049	2	0,07	—	—	—	[136]
Флорида № 10	916	10	1,09	516	9	1,74	[486]
Лозанна	955	2	0,21	436	3	0,69	[486]
Ленинград	8614	14	0,16	—	—	—	[725]
Сухуми	2309	24	1,04	—	—	—	[725]

Пожалуй, наиболее интересные примеры генетического контроля над частотой мутаций получены в работах Родса [512, 513] и Мак-Клинтон с кукурузой [390, 391]. Эти исследования не только подтвердили ранее полученные на дрозофиле данные о том, что частота мутаций некоторых генов находится под контролем других генов, но дали и новые результаты, подкрепленные цитологическим анализом, которые, возможно, приведут к пониманию явления спонтанных мутаций.

Родс обнаружил, что у кукурузы ген a_1 из серии аллелей гена А обычно очень стабилен, однако можно вызвать его весьма частое мутирование к другим аллелям этой серии. Этот ген расположен в III хромосоме, и если он присутствует в гомозиготном состоянии, то

в алейроновом слое эндосперма или в других частях растения совсем не образуется антоциана (фиг. 14). Однако в присутствии доминантного гена *Dt*, расположенного в IX хромосоме, ген *a₁* мутирует к другим аллелям серии *A*, доминантным по отношению к *a₁* и допускающим развитие антоциана. Мутации гена *a₁* происходят как в зародышевых, так и в соматических клетках. Соматические мутации проявляются в форме мозаичности: в алейроновом слое семян



Фиг. 14. Схема строения зерна кукурузы (по Фаллеру).
1 — эндосперм, 2 — околоплодник,
3 — алейроновый слой эндосперма,
4 — зародыш, 5 — плодоножка.

наблюдаются мелкие пятна антоциана и узкие полосы пигмента в разных частях растения. Ни на один другой аллель из этой серии ген *Dt* подобного влияния не оказывает. Частоту мутаций гена *a₁* к другим аллелям этой серии, например к *A₁* (обуславливающему развитие наибольшего количества пигмента), легче всего определить, наблюдая появление окрашенных пятен в алейроне с генотипом *aaa Dt Dt Dt*. Во время развития ткани эндосперма гены *a₁* мутируют к *A₁*, что приводит к появлению центров роста окрашенной ткани, которые, когда они становятся достаточно крупными, делаются заметными в виде пятен. Считается, что каждое пятно возникло за счет появления одной мутации.

Тот факт, что пятна обычно бывают одинаковой величины, показывает, что мутации происходят на определенной стадии развития, а относительно малый размер пятен говорит о том, что эта стадия близка к заключительному этапу развития алейронового слоя. Это относится и к другим тканям

растения, включая спорогенную ткань пыльников, которая дает начало мужским гаметам. Наблюдается интересный эффект дозы. С увеличением в алейроновом слое дозы аллеля *Dt* от *Dt dt dt* к *Dt Dt Dt* число мутаций на одно семя возрастает следующим образом:

<i>dt dt Dt</i>	—	7,2	мутации на семя
<i>dt Dt Dt</i>	—	22,2	» » »
<i>Dt Dt Dt</i>	—	121,9	» » »

Увеличение числа чувствительных аллелей *a₁* в присутствии постоянной дозы генов *Dt* приводит, как и следовало ожидать, к линейному возрастанию появления мутаций.

ФИЗИЧЕСКИЕ И ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЧАСТОТУ МУТАЦИЙ

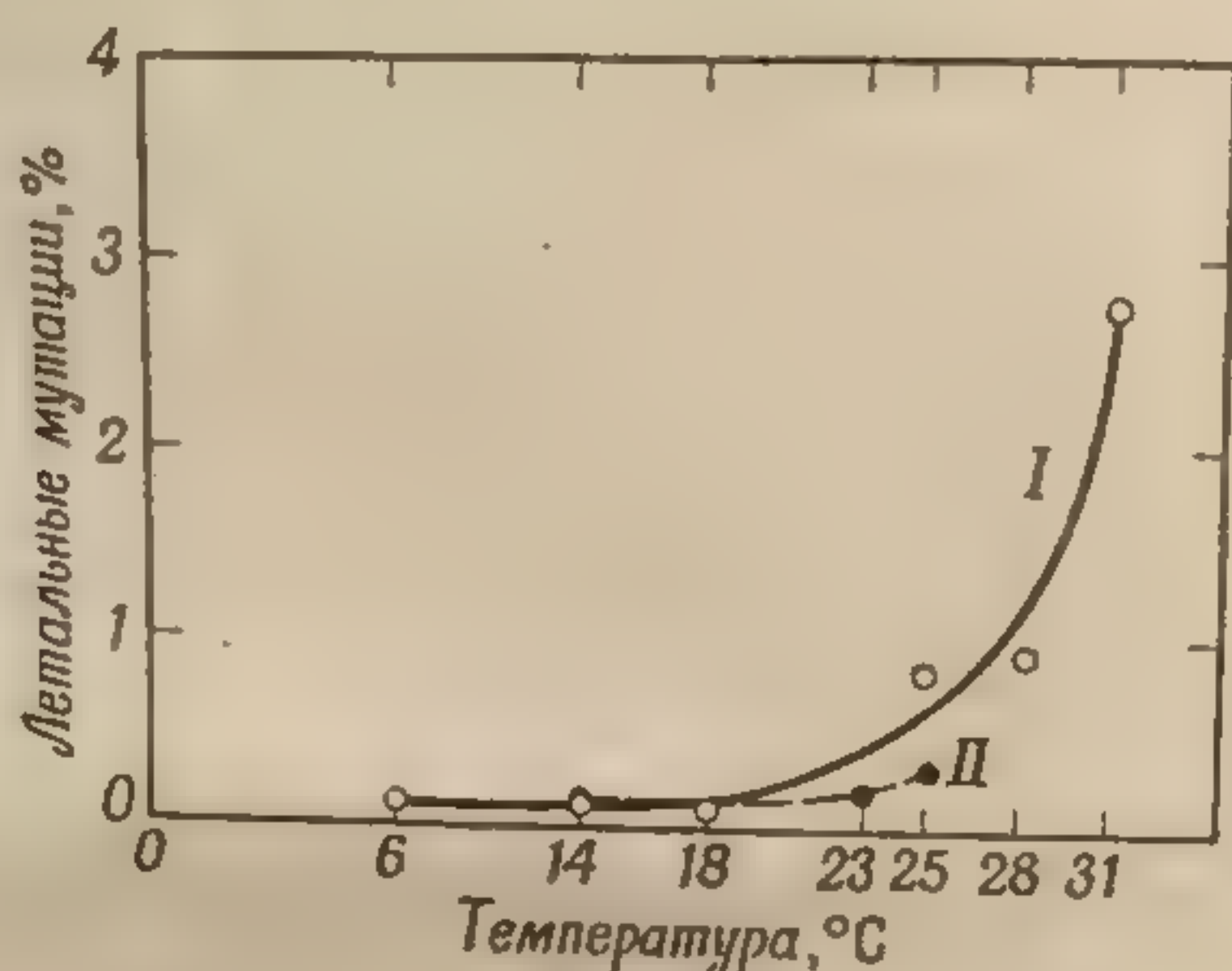
Кроме значительного влияния генотипа на частоту мутаций, имеется три основных внешних фактора, которые могут очень сильно изменять ее: 1) температура, 2) некоторые излучения, 3) некоторые химические вещества. Второй и третий факторы широко использовались не только в процессе изучения мутаций, но и с целью получения новых мутантов для генетических исследований. Хотя попытки искусственно повысить общую частоту мутаций оказались весьма успешными, однако до сих пор у организмов, размножающихся половым путем, не удается направлять мутации определенного гена, оставляя остальной генетический материал незатронутым. Такие мутагенные факторы, как излучения и химические вещества, по-видимому, просто дают достаточное количество энергии, чтобы прямо или косвенно вызывать химическую трансформацию генетического материала, что приводит к повышению частоты мутаций над уровнем спонтанного мутирования, но процесс этот не является направленным. Экспериментатор очень слабо может контролировать типы мутаций, получаемые при помощи таких воздействий; обычно он может лишь контролировать общую частоту мутаций, изменяя условия применения мутагенного фактора.

Температура

Влияние температуры на частоту мутаций изучали главным образом на *D. melanogaster*. Как показано на фиг. 15, повышение температуры, при которой развиваются мухи, увеличивает частоту мутаций, в частности при температуре выше 15°. Если за биологическую единицу времени принять поколение, то температурный коэффициент Q_{10} (отношение частоты мутаций, постоянной при одной температуре, к частоте, постоянной при температуре, которая ниже на 10°), вычисленный на основании этих данных, оказался величиной, лежащей между 2 и 3. Этого и можно было ожидать для большинства биологических процессов и химических реакций. Однако необходимо учесть, что это средний коэффициент для определенного класса мутаций: леталей X-хромосомы и II хромосомы *D. melanogaster*. Каков коэффициент для мутаций определенных локусов — неизвестно, но весьма возможно, что может наблюдаться значительная степень отклонения от указанного среднего коэффициента 2—3.

Температуры, выходящие за пределы нормальных для данного организма, нельзя использовать в тех опытах, где полный цикл развития проходит при постоянной температуре, как в вышеописанных экспериментах, но крайние температуры можно применять в течение коротких периодов времени в качестве температурных «шоков». При обработке трехдневных личинок *D. melanogaster* температурами 36—38° в течение 12—24 час. частота летальных и видимых

мутаций возрастает вдвое [79, 80]. Шоки под влиянием низкой температуры в -6° в течение 25—40 мин. увеличивали частоту летальных мутаций в X-хромосоме и II хромосоме в 3 раза [46]. Мутации, полученные при воздействии температурных шоков, не отличаются от мутаций, полученных при длительном действии умеренных температур. Как длительная температурная обработка, так и тепловые шоки, по-видимому, не оказывают влияния на частоту транслокаций [486].



Ф и г. 15. Влияние температуры на частоту летальных мутаций у *D. melanogaster* [486].

I — II хромосома, II — X-хромосома.

Гены с особенно высокой частотой мутирования, так называемые нестойкие, или мутабельные аллели, вероятно, реагируют на температурное воздействие иначе, чем гены *D. melanogaster* дикого типа, мутирующие к леталю. Например, было обнаружено, что аллель a_1 у кукурузы в присутствии специфического гена-мутатора *Dt* мутирует к различным аллелям при температуре $15,5^{\circ}$ в 4—5 раз чаще, чем при температуре 27° [512]. Влияние температуры на частоту мутаций гена a_1 в растениях, гомозиготных по *dt*, не изучено. Сходное с этим обратное отношение между частотой мутаций и температурой наблюдалось для нестойкого гена *flaking* у *Portulaca* [175] и мозаичной окраски глаза — у *D. melanogaster* [221]. С другой стороны, Демереку [135] не удалось обнаружить какого-либо изменения влияния на частоту мутаций ряда нестойких генов у *Drosophila virilis* при изменении температуры на 10° .

Ясно, что в настоящее время на основании имеющихся данных нельзя сделать каких-либо общих выводов о влиянии температуры на частоту мутаций. Были сделаны попытки объяснить различия в реакции «устойчивых» генов дрозофилы на температуру путем применения квантовой теории, согласно которой при повышении температуры частота изменений нестойких молекул возрастает меньше, чем стойких [448]. Однако эта теория не согласуется со всеми имеющимися данными. Наблюдаемая стабильность гена зависит не только

от его термодинамического состояния, но также и от его непосредственного окружения в клетке, и гипотезы, которые будут пытаться объяснить изменение частоты мутаций в зависимости от температуры, должны принимать во внимание также и эти условия.

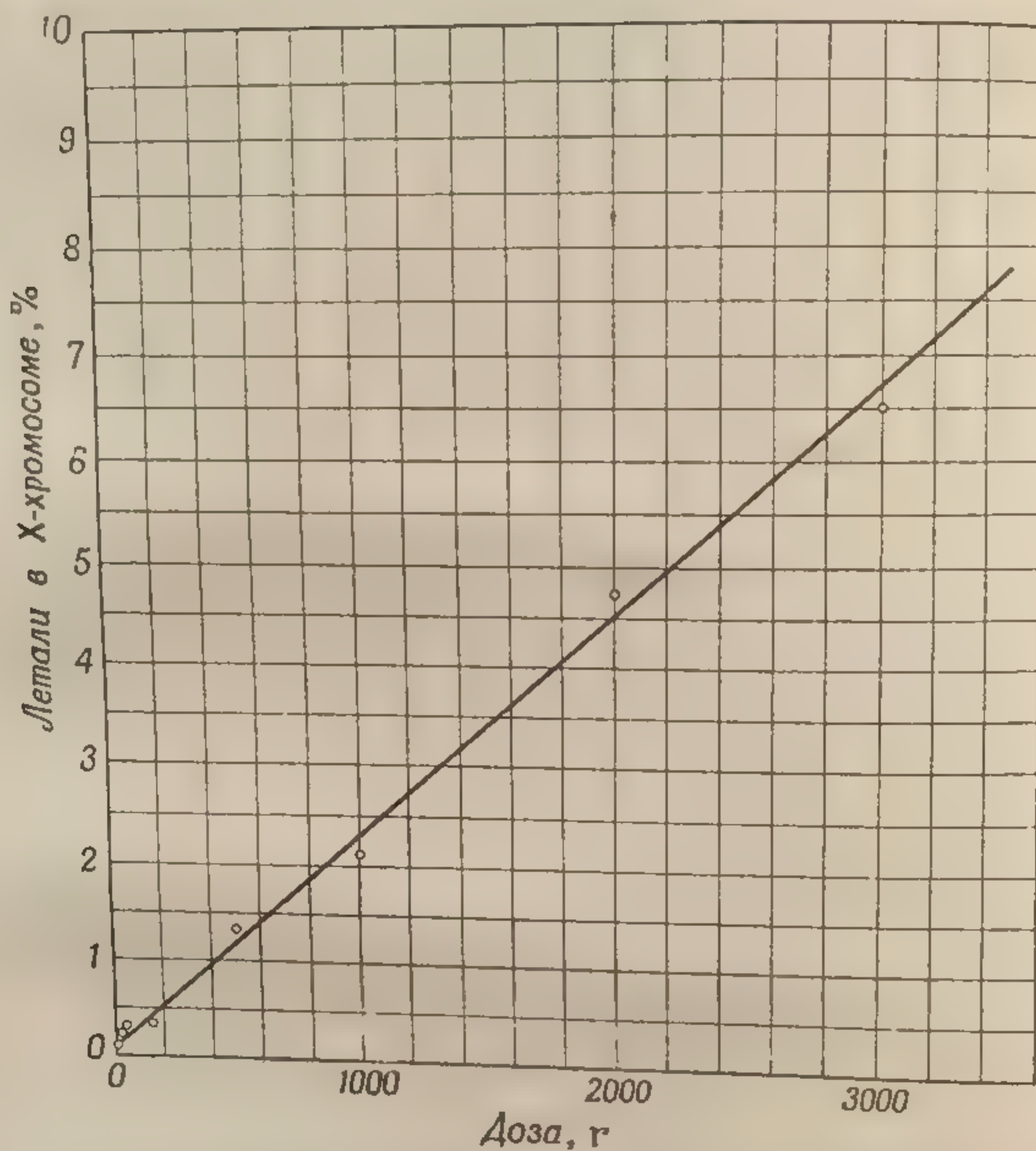
Излучения

Рентгеновские лучи, α -частицы, нейтроны, γ -лучи, β -частицы, ультрафиолетовые лучи представляют собой испытанные мутагенные факторы, способные вызывать изменения в генах и хромосомах. Среди указанных излучений лишь ультрафиолетовые лучи не относятся к ионизирующим. Считается, что первичный биологический эффект ионизирующих излучений связан с тем, что они вызывают ионизацию в тканях; вторичный эффект обусловлен тепловыми колебаниями или возбуждением молекул ткани. Относительную эффективность ионизации и возбуждения учесть трудно [176], хотя некоторые исследователи, например Ли и Кэтчсайд [см. 353], на основании теоретических соображений предположили, что изменения, вызываемые возбуждением без ионизации, не имеют последствий. В любом случае, вызываются ли превращения ионизацией или возбуждением, молекулы, в которые попадает частица или квант энергии, могут претерпеть химическое изменение. Вероятность того, что произойдет изменение, возрастает с увеличением энергии, передаваемой частицами или квантами излучений. Ультрафиолет — излучение неионизирующее — вызывает изменения лишь путем возбуждения молекул вещества, которое его поглощает. Вещества, не поглощающие ультрафиолетовые лучи, конечно, непосредственно ими не затрагиваются, так как при этом не происходит переноса энергии и поэтому нет причины для возбуждения молекул, которое могло бы привести к химическим, а следовательно, и к генетическим изменениям. Вещества, не поглощающие ультрафиолетовые лучи, могут, однако, быть затронуты ими косвенно, как это будет видно из дальнейшего изложения.

Считается, что все эти излучения влияют на гены и хромосомы, давая энергию для химических изменений, приводящих к мутациям. Природа химических изменений неизвестна, но многие из них стабильны. Это следует из того факта, что мутантные фенотипы, возникшие под действием излучений, сохраняют стабильность из поколения в поколение, что характерно и для естественно возникающих мутаций. Кроме точечных мутаций, возникают также разрывы хромосом, приводящие к возникновению инверсий, транслокаций и делеций, а также к потере целых хромосом и другим аномалиям. Степень изменения частоты мутаций зависит от типа излучений, дозы и различных факторов среды, обсуждаемых ниже.

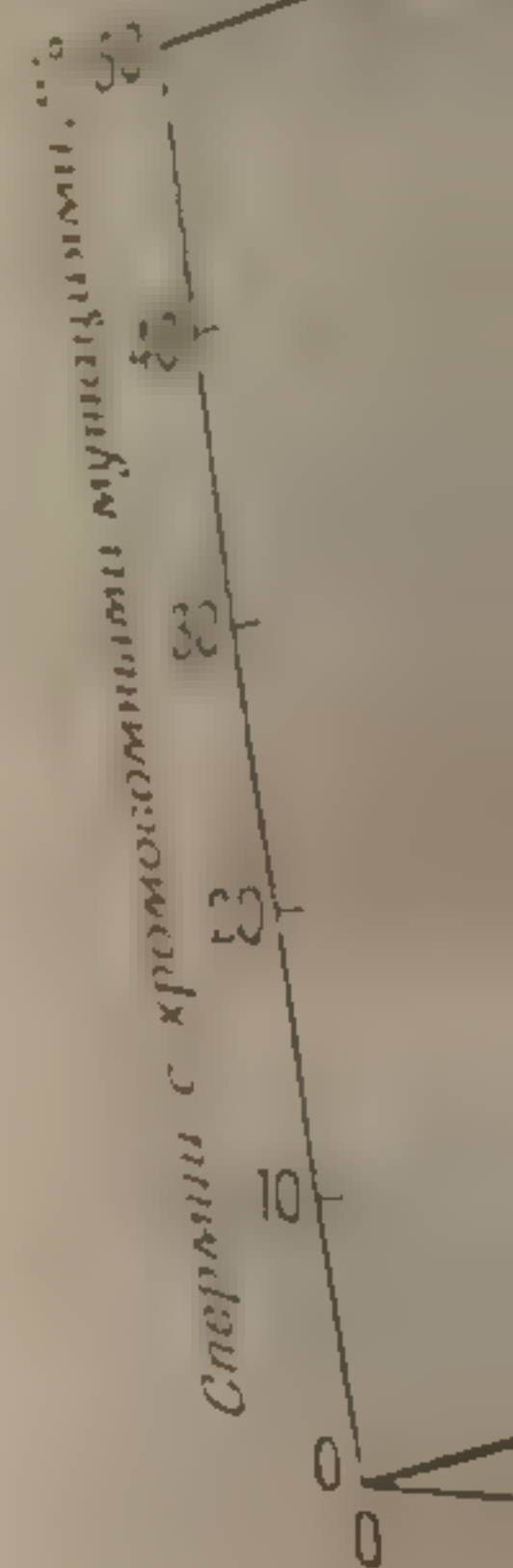
Доза ионизирующих излучений, действующих на ткани, для рентгеновских и γ -лучей измеряется в рентгенах (r). Один рентген представляет собой число ионизаций, возникающих на единицу объема облучаемого вещества. В воде и ткани, облучаемой дозой

1 г на $1 \mu^3$, возникает примерно две ионизации. Точное число ионизаций зависит от вида излучения и состава ткани. α , β -частицы и нейтроны — это излучения, испускаемые в виде частиц атома. Измерять дозы этих излучений труднее, чем рентгеновских и γ -лучей, но для сравнения их можно превращать в рентгены, поскольку все они вызывают ионизацию. Между дозой воздействующих ионизирующих



Фиг. 16. Связь между дозой рентгеновских лучей и процентом леталей, возникающих в X-хромосоме *D. melanogaster* [580].

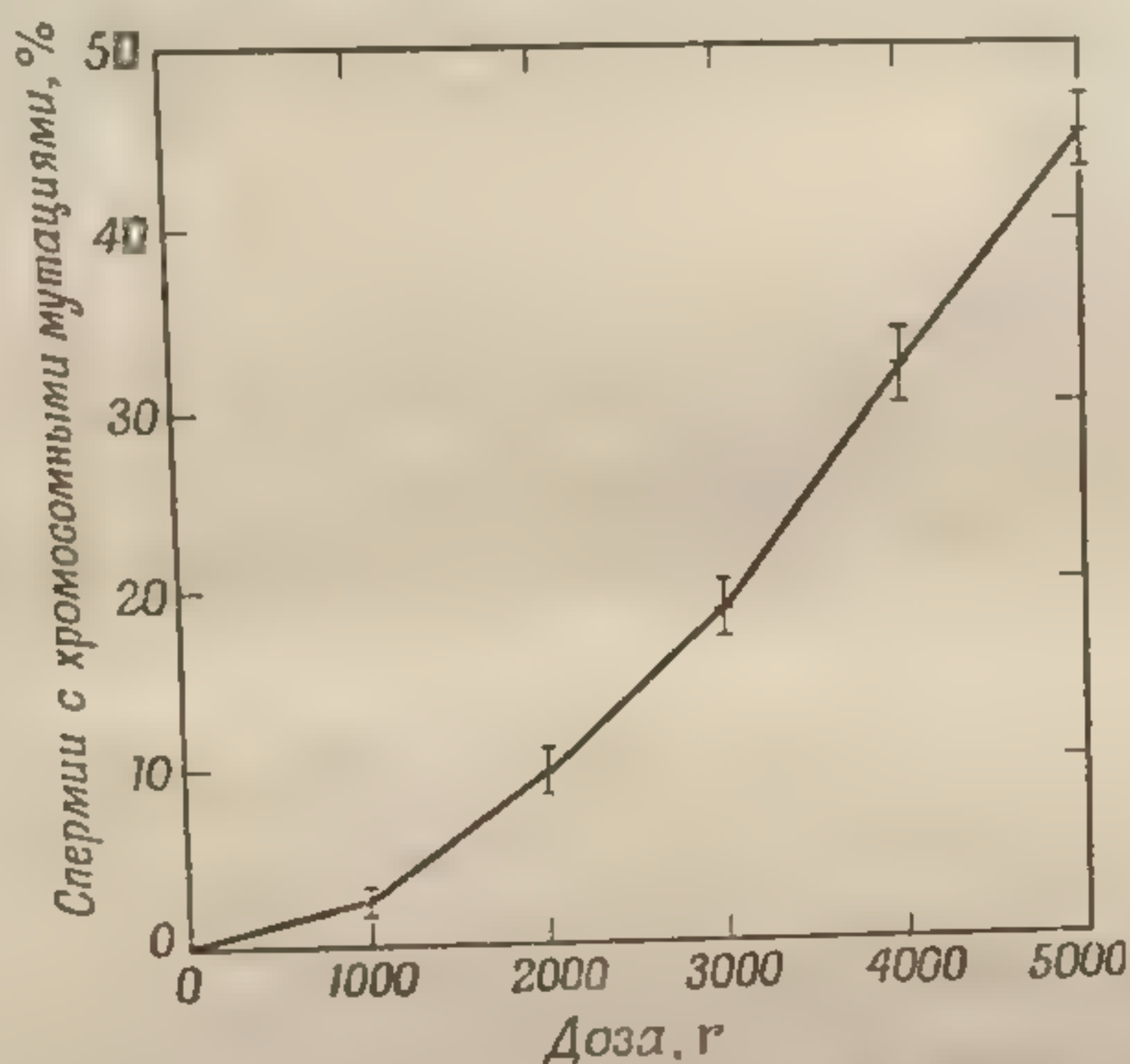
излучений и возникновением точечных мутаций наблюдается, по-видимому, прямая пропорциональность. Это взаимоотношение иллюстрируется на фиг. 16 для сцепленных с полом рецессивных летальных мутаций у *Drosophila melanogaster*. Подобная пропорциональность наблюдается также и для видимых мутаций. Число мутаций, возникающих под влиянием ультрафиолетовых лучей, также пропорционально дозе (эрг/см^2), но только при низких дозах; при достаточно высоких дозах частота мутаций с увеличением дозы не возрастает и может даже падать.



Фиг. 17
лучей и

Частота мутаций, излучений, большей дозы, обычно [51]. На фиг. 18 пр отсутствие зависимость для очень доза остается по- которые исключаются локаций у тради [540], если доз жутка времени, число разрывов новых соединен Хаас и др. никающие...

Частота разрывов хромосом, возникающих под действием ионизирующих излучений, пропорциональна дозе [23, 90, 334, 539, 647], но частота хромосомных перестроек, получающихся при соединении разорванных концов в новых комбинациях, возрастает с дозой рентгеновских лучей не в простой линейной зависимости. Это связано с их происхождением из двух или большего числа разрывов, причем каждый разрыв возникает под действием отдельной ионизирующей частицы. Зависимость частоты хромосомных перестроек от дозы сложная и не соответствует прямолинейной (фиг. 17) [17, 22, 101, 156].

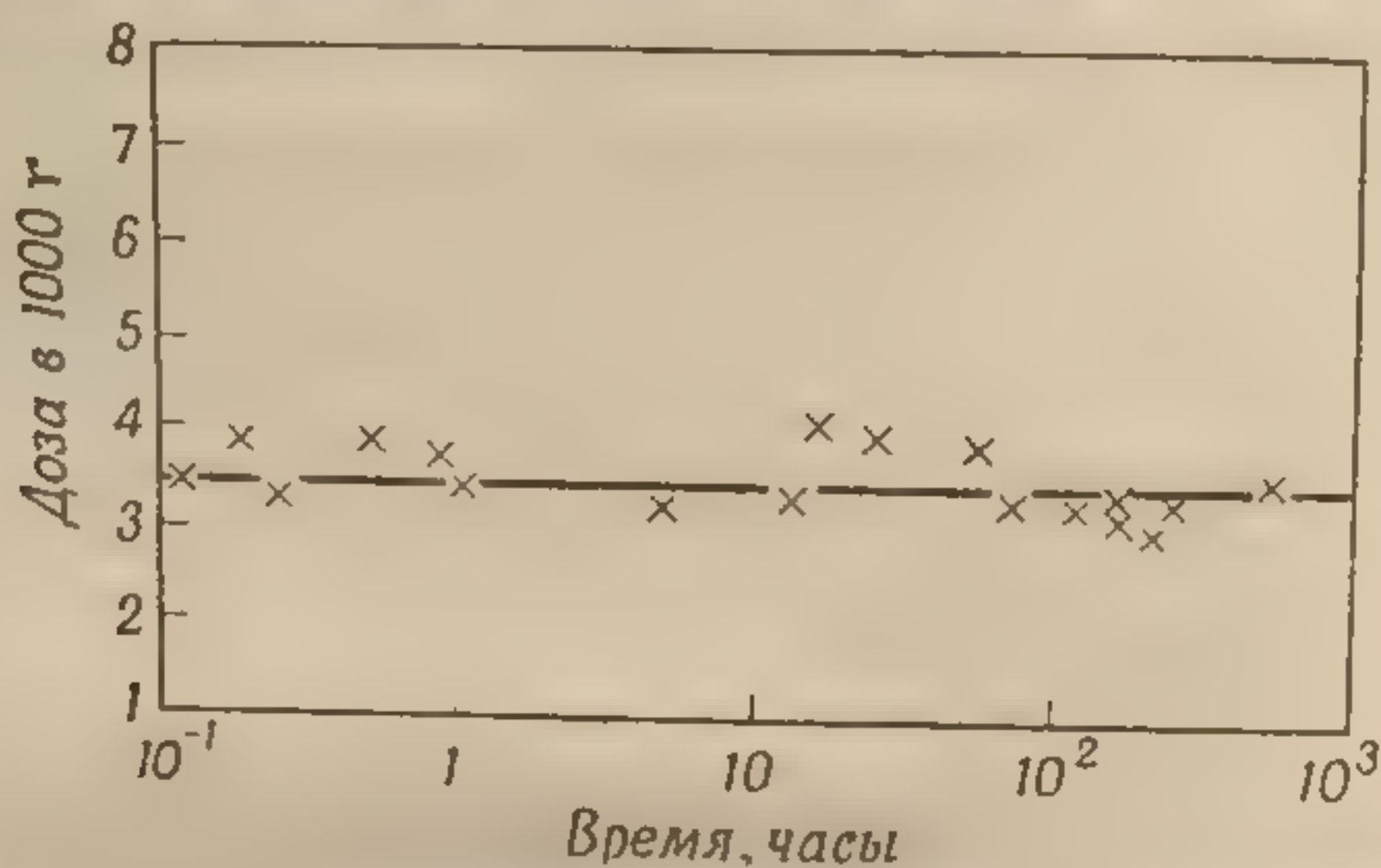


Ф и г. 17. Связь между дозой рентгеновских лучей и процентом хромосомных перестроек у *D. melanogaster* [22].

Частота мутаций, возникающих под действием ионизирующих излучений, большей частью не зависит от длительности применения дозы, обычно называемой интенсивностью излучения [472, 651]. На фиг. 18 приведены некоторые данные, показывающие, что отсутствие зависимости частоты мутаций от мощности дозы наблюдается для очень широкого диапазона мощности дозы, если общая доза остается постоянной. Из этого общего правила имеются некоторые исключения, касающиеся, например, возникновения транслокаций у традесканции. В этом случае, как и можно было ожидать, число перестроек, связанных с двумя разрывами, уменьшается [540], если доза сообщается в течение более длительного промежутка времени, так как при уменьшении мощности дозы снижается число разрывов, необходимых в любой момент для образования новых соединений.

Хаас и другие [243] обнаружили, что число транслокаций, возникающих в спермиях *D. virilis* под воздействием рентгеновских лучей, значительно увеличивается при большей интенсивности

излучений. Если доза рентгеновских лучей 2000 г сообщается в течение 1 мин., то транслокаций возникает на 60% больше, чем если та же доза сообщается в течение 20 мин. Однако в этом случае труднее объяснить зависимость между интенсивностью и числом разорванных концов хромосом, имеющих в любой момент, так как значительное число данных говорит о том, что разорванные хромосомы в спермиях дрозофилы не соединяются до момента оплодотворения. Кроме того, типы возникающих транслокаций ясно показывают, что все дело заключается не только в наличии разорванных концов



Фиг. 18. Влияние мощности дозы рентгеновских лучей на частоту мутаций у *D. melanogaster* [472, 651].
Время дано в логарифмической шкале.]

[243]. Если это так, то объяснения эффекта мощности нужно искать в чем-то ином. Возможно, что ответом на это является тот факт, что излучения оказывают косвенное влияние на клетку путем образования свободных радикалов и т. д. вне генного материала, которые затем могут действовать как мутагены, реагирующие с генным материалом. Это косвенное влияние излучений и химических мутагенов подробно обсуждается в следующих главах. В настоящем контексте ясно, что концентрация мутагенного материала, возникающего при высокой интенсивности, должна быть гораздо больше, чем при небольшой интенсивности, если мутагены лабильны. Как видно из дальнейшего изложения, дело обстоит, по-видимому, именно так.

Все ионизирующие излучения вызывают мутации и разрывы хромосом, хотя эффективность их различна. В табл. 4 приведены некоторые количественные данные об относительной эффективности различных типов ионизирующих излучений в вызывании леталей у дрозофилы и хромосомных (изохроматидных) разрывов у традесканции.

Эти данные собраны из разных источников, и поэтому следует ожидать некоторой степени несовпадения в результате различий в технике эксперимента. Однако различия, наблюдаемые в таблице, настолько велики, что они ясно указывают на некоторое значение

...плотности и ...
...рентгеновские ...
...как более жесткие ...
...в более ин ...
...эффективность ультра ...
...связана с длиной ...
...наблюдается в области ...
...с максимальной эффекти ...
...что показано на фиг. 2

Относительная эффек ...
вызывающих мутации у д

Тип излучения

Рентгеновские лучи из бе ...
23 Мэв
20 "
β-Частицы, γ-лучи и ж ...
новские лучи (12,4 кэв ...
и ниже)
Мягкие рентгеновские л ...
Нейтроны (Li + D)
α-Частицы (радон)

Изох

Тип излу

Рентгеновские лучи ...
0,15 Å
1,5 Å
4,1 Å
Нейтроны (Li + D) ...
α-Частицы (радон) ...
Тепловые нейтроны

*По сравнению ...
**По-видимому ...
по их длине в пери ...

5 р. Вагнер

интенсивности ионизации ионизирующих излучений для их эффективности. Плотность ионизации излучения — это мера распределения ионизаций на пути ионизирующих частиц. Излучения с высокой плотностью ионизации, такие, как α -частицы, нейтроны и мягкие рентгеновские лучи, вызывают ионизации одного порядка, тогда как более жесткие излучения, такие, как коротковолновые рентгеновские лучи, β -частицы и γ -лучи, вызывают ионизации, варьирующие в более широких пределах (фиг. 19).

Эффективность ультрафиолетовых лучей в вызывании мутаций тесно связана с длиной волны. Наибольшая мутагенная активность наблюдается в области 2500—2800 Å, но специфичная длина волны с максимальной эффективностью различна для разных организмов, что показано на фиг. 20. Кривая относительной эффективности

Таблица 4

Относительная эффективность разных ионизирующих излучений, вызывающих мутации у дрозофилы и хромосомные разрывы у традесканции

Летали у дрозофилы

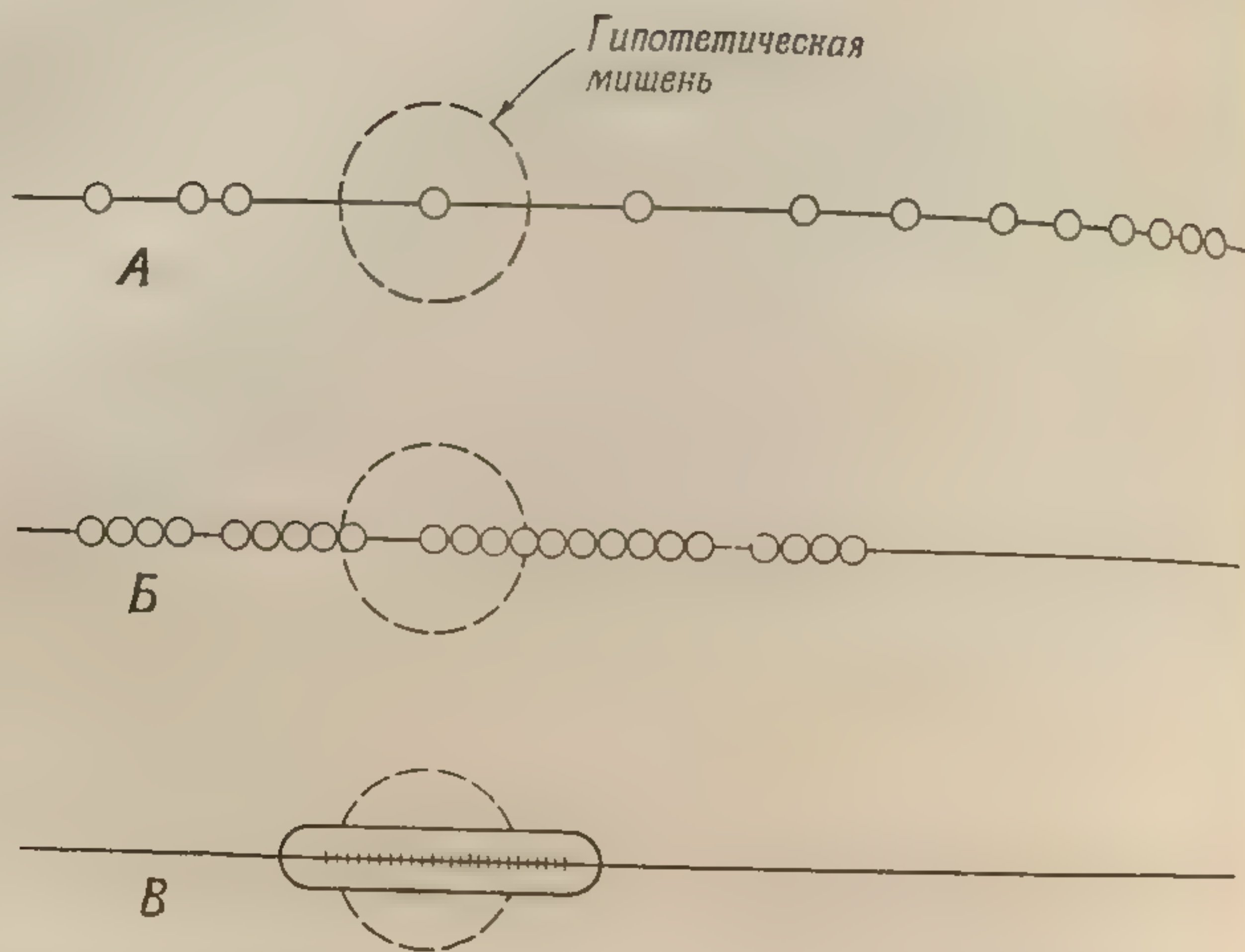
Тип излучения	Летали на 1000 г, %	Относительная эффективность	Литература
Рентгеновские лучи из бетатрона			
23 Мэв	1,7	0,59	[508]
20 "	1,4	0,48	[383]
β -Частицы, γ -лучи и жесткие рентгеновские лучи (12,4 кэв—2,2 Мэв) (1 Å и ниже)	2,9	1,0	[723]
Мягкие рентгеновские лучи (2,2 Å) ..	2,54	0,96*	[723]
Нейтроны (Li + D)	1,9	0,66	[652]
α -Частицы (радон)	0,84	0,29	[677, 353]

Изохроматидные** разрывы у традесканции

Тип излучения	Число разрывов на 100 клеток на 1 г	Относительная эффективность	Литература
Рентгеновские лучи			
0,15 Å	0,27	1,0	[647]
1,5 Å	0,26	1,0	[100]
4,1 Å	0,44	1,6	[100]
Нейтроны (Li + D)	0,99	3,7	[647]
α -Частицы (радон)	2,10	7,8	[334]
Тепловые нейтроны	3,02	11,0	[114]

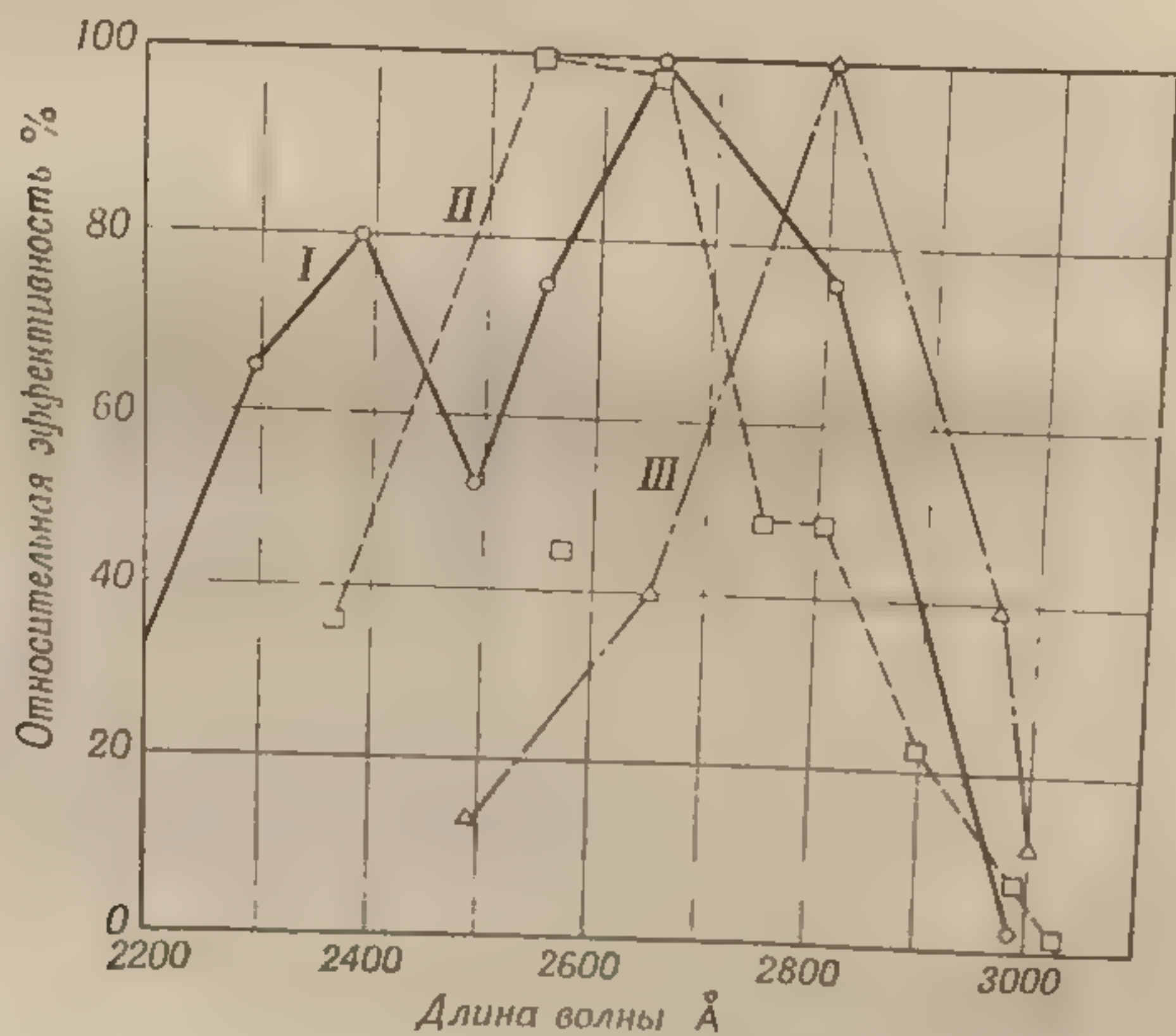
*По сравнению с 2,65% леталей при 0,94 Å, обнаруженных этими же авторами.

**По-видимому, одновременный разрыв сестринских хроматид в одном и том же месте по их длине в период ранней профазы.



Ф и г. 19. Схема процессов ионизации на пути частиц трех разных видов ионизирующих излучений [224].

А — жесткие рентгеновские лучи, низкая плотность ионизации, Б — мягкие рентгеновские лучи, высокая плотность ионизации, В — α -частицы, очень высокая плотность ионизации.



Ф и г. 20. Относительная мутагенная эффективность ультрафиолетовых лучей с различной длиной волны для трех организмов.

I — *Trichophyton* [286], II — *Chaetomium* [749], III — *Zea mays*.

(спектр действия) для кукурузы хорошо совпадает с кривыми спектра поглощения нуклеиновых кислот, также имеющих пик в области 2600 Å. Это соответствие дало повод многим исследователям высказать мнение, что нуклеиновая кислота представляет собой важную функциональную часть гена [286].

Как и можно было ожидать, нуклеиновые кислоты легко разлагаются при облучении ультрафиолетом в области 2600 Å в связи с распадом пуриновых и пиримидиновых структур [504]. Более того, хорошо известно, что наибольшая бактерицидная активность ультрафиолета наблюдается при длине волны 2600 Å. Все эти факты говорят в пользу гипотезы, что мутагенное и летальное действие ультрафиолетовых лучей связано с изменением нуклеиновых кислот внутри клетки. Однако, как показано на фиг. 20, не все организмы обнаруживают одинаковую реакцию на облучение ультрафиолетом, если учитывать частоту мутаций; нельзя также отрицать участия в этом процессе других веществ, поглощающих в клетке ультрафиолетовые лучи. Эти обстоятельства необходимо учитывать при истолковании имеющихся данных.

Гипотеза мишени

Для объяснения огромного количества данных о генетическом действии излучений, накопившихся очень быстро после открытия Меллера в 1927 г. [441], была выдвинута гипотеза, которая получила название «теории мишени». Согласно этой гипотезе, простое возбуждение атомов в облученном материале имеет небольшое значение для вызывания химических изменений, а наблюдаемый эффект вызывается главным образом ионизацией. Это допущение, которое непосредственно не подтверждается данными, полученными при изучении генных мутаций, было подвергнуто значительной критике (см. Фано [76] и Грэй [224]). Далее предполагается, что гены и хромосомы при «попадании» в них или прохождении через них ионизирующей частицы мутируют с вероятностью, близкой к 1. Если допустить, что ионизирующие излучения вызывают внутри клетки также трансформацию других молекул, не расположенных в хромосомах, то гипотезу в ее чистой форме нельзя признать правильной, так как она не допускает, что измененный внегенный материал будет в свою очередь заметно влиять на компоненты хромосом [353]. Чтобы допустить возможность того, что ионизация в непосредственной близости к хромосоме может оказать на последнюю косвенное влияние, обычно считают, что в клетке имеется чувствительный объем, в который входят и хромосомы. Чтобы произошла точечная мутация или разрыв хромосомы, ионизация должна произойти внутри чувствительного объема. Таким образом, чувствительный объем представляет собой мишень, а попадания в эту мишень могут быть обнаружены в виде мутаций.

Гипотеза мишени подтверждается в основном следующими данными: 1) число вызываемых «точечных мутаций» или наблюдаемых

разрывов хромосом прямо пропорционально дозе, измеряемой числом ионизаций; 2) число возникающих «точечных мутаций» и разрывов не зависит от мощности дозы или от промежутка времени, в течение которого она дается (однако имеются исключения, отмеченные выше); 3) эффективность ионизирующего излучения в отношении вызывания им мутаций и разрывов хромосом, по-видимому, связана с его удельной ионизацией. В соответствии с предпосылками вышеизложенной теории все эти данные ясно показывают, что эффект ионизирующего излучения проявляется по закону «все или ничего», что единичный акт ионизации или их группа, которая вызвана прохождением единственной ионизирующей частицы, вызывающей первичную ионизацию, действуют как эффективная мутагенная единица. Прямая зависимость между числом возникающих мутаций и дозой и отсутствие зависимости от промежутка времени, в течение которого сообщается определенная доза, наблюдаются лишь в том случае, если каждая мутация или разрыв вызывается одним первичным явлением или «попаданием». Если бы требовалось два или большее количество независимых попаданий, что необходимо при возникновении крупных хромосомных перестроек, то линейная зависимость уже не имела бы места и не наблюдалось бы независимости эффективности дозы от ее мощности.

Данные, приведенные в табл. 4, показывают, что «попадание» может быть единичным актом ионизации или их группой. У традесканции изохроматидные разрывы наиболее эффективно возникают под влиянием α -частиц. Затем в порядке убывающей эффективности идут: нейтроны, очень мягкие рентгеновские лучи и, наконец, жесткие рентгеновские лучи. Этот ряд соответствует порядку снижения плотности ионизации. Было сделано заключение, что прямая зависимость между снижением эффективности и уменьшением плотности ионизации показывает, что разрывы хромосом традесканции возникают под влиянием нескольких актов ионизаций [354], а не под действием отдельных ионизаций. Акты ионизации, вызываемые жесткими рентгеновскими лучами, так редки по длине почти всего пути частицы, что эффективна лишь конечная часть пути, тогда как почти весь путь α -частиц и протонов, возникающих при облучении нейтронами, оказывается эффективным (см. фиг. 19). Ли и Кэтчсайд [354] высчитали на основании подобного типа данных, что минимальное число ионизаций, необходимое для того, чтобы вызвать разрыв хромосомы традесканции, лежит между 15—20.

Эффективность рентгеновских лучей, нейтронов и α -частиц в отношении вызывания ими леталей у дрозофилы с увеличением плотности ионизации падает. Ли [353] и Кэтчсайд [99] объясняли это тем, что рецессивные летали у дрозофилы возникают под влиянием одной или очень малого числа ионизаций. Они считают, что бомбардировка столь малого объекта, как ген, α -частицами, при воздействии которых ионизации возникают на пути частицы настолько густо, что многие почти одновременно располагаются внутри мишени или чувствительного объема, приводит к тому, что некото-

из них падает на
лишь одна ионизация
излучения распреде
из них произ
образом, возник
что результа
лучей с необы
не подтвержда
наиболее низку
перечисленных в табл
Основываясь на то
гена может быть выз
вторичных ионизаций
воздействии первичн
ватели пытались опре
чений. Линейное от
мутаций можно выра

где n — число набл
при дозе излучения
определить как ве
воздействии дозы 1
будет мутировать
и его объемом ил
имеется прямая за
помощи этой форм
Ли [353] определ
Некоторое подтв
на основе гипотез
довании инактив
тиц. Так, напри
и α -частиц было
около 16 мд [35
рированном со
коллоидные м
Несмотря
посылками ги
становится во
генетического
смотра. Она
однако резул
делах, показ
общую теори
тезы в перву
использова
таков

рые из них пропадают впустую, если для получения эффекта необходима лишь одна ионизация (см. фиг. 19). С другой стороны, эффективность излучений меньшей плотности должна быть выше, поскольку ионизации распределены реже и больше вероятность того, что каждая из них произведет «попадание» в отдельном участке, и, таким образом, возникнут разные мутации. Однако необходимо отметить, что результаты, наблюдаемые при воздействии рентгеновских лучей с необычайно высокой энергией, получаемых в бетатроне, не подтверждают этого вывода, несмотря на то, что они имеют наиболее низкую плотность ионизации среди источников, перечисленных в табл. 4.

Основываясь на том, что гипотеза мишени правильна и мутация гена может быть вызвана одной ионизацией (или пучком ионов от вторичных ионизаций, вызванных электроном, выброшенным при воздействии первичной ионизирующей частицы), многие исследователи пытались определить размер гена по эффектам действия излучений. Линейное отношение между дозой и числом наблюдаемых мутаций можно выразить уравнением

$$n = \alpha ND,$$

где n — число наблюдаемых мутаций, возникших в N хромосомах при дозе излучения D . Константу пропорциональности α можно определить как вероятность того, что ген будет мутировать при воздействии дозы 1 г. Поскольку между вероятностью того, что ген будет мутировать при преграждении потока ионизирующих частиц и его объемом или объемом «чувствительной» зоны вокруг гена, имеется прямая зависимость, объем гена может быть вычислен при помощи этой формулы. Предполагая, что гены имеют форму шара, Ли [353] определил этим методом, что их диаметр равен 4—6 μ . Некоторое подтверждение попыткам определения размера частиц на основе гипотезы мишени дают результаты, полученные при исследовании инактивации ионизирующими излучениями вирусных частиц. Так, например, на основе применения рентгеновских, γ -лучей и α -частиц было вычислено, что дизентерийный фаг S_{13} имеет диаметр около 16 μ [353]. Таков же наблюдаемый диаметр вируса в негидрированном состоянии, если он определяется фильтрацией через коллодиевые мембраны.

Несмотря на значительную степень совпадения между предположениями гипотезы мишени и многими наблюдаемыми фактами, становится все более ясным, что ее применение для истолкования генетического действия излучений требует существенного пересмотра. Она была очень полезной в качестве рабочей гипотезы, однако результаты исследований, излагаемые в дальнейших разделах, показывают, что она может быть включена в будущем в более общую теорию. Критические высказывания в отношении этой гипотезы в первую очередь были направлены против возможности ее использования для определения размера генетических единиц. Они таковы: 1) нет уверенности в том, что каждое попадание внутри

гена или хромосомы, или «чувствительного» объема, вызывает мутацию; 2) имеются данные о том, что «чувствительный» объем не совпадает с объемом генетического материала. Другими словами, эффект исходной ионизации может быть непрямым в отношении вызывания мутаций в хромосомах; 3) нельзя ожидать, что все мутации, вызванные ионизирующими излучениями, могут быть обнаружены существующими в настоящее время методами; 4) при измерении дозы излучений лишь на основе возникающих ионизаций совершенно не учитывается фактор возбуждения молекул внутри клетки. Однако нет уверенности в том, что возбуждение ионизирующими излучениями не вызывает «точечных» мутаций и хромосомных разрывов, подобно наблюдаемым при воздействии ультрафиолетовых лучей.

Химические мутагены

Возможность получения мутаций под воздействием химических веществ интенсивно исследовали многие авторы до и после открытия мутагенного действия излучений. Однако лишь исследования Ауэрбах и Робсон [11, 12], начатые в 1940 г., ясно показали, что обработка химическими веществами может столь же эффективно вызывать мутации, как и излучения. Первые результаты были получены при обработке *D. melanogaster* аллилизотиоцианатом (горчичное масло) или ипритом с последующим учетом сцепленных с полом леталей. Под действием иприта оказалось возможным увеличить процент сцепленных с полом леталей с 0,2 в контроле до 24% у обработанных мух [11]. Дальнейшие работы названных выше, а также других исследователей с дрозофилой, некоторыми из высших растений, грибами и бактериями вскоре показали, что мутагенным действием обладают и многие другие химические вещества, кроме иприта и его производных. В табл. 5 приводятся некоторые из этих веществ и указывается их эффективность в отношении вызывания мутаций у дрозофилы, бактерий и нейроспоры, а также цитологически выявляемых изменений в хромосомах растений, возникающих в результате разрывов. Очевидно, что соединения, перечисленные в табл. 5, имеют различное химическое строение. Этот список можно было бы увеличить во много раз, добавив соединения, которые оказывают мутагенное действие на бактерии и вызывают хромосомные аберрации у растений. Если бы это было сделано, разнообразие химического строения соединений еще возросло бы, хотя в данной таблице приведены соединения весьма различные: от простых неорганических до сложных алкалоидов.

Соединение может быть мутагенным для одного организма и не оказывать никакого влияния на другой. Так, перекись водорода и диазометан вызывают мутации у нейроспоры, но не оказывают заметного действия на хромосомы растений. С другой стороны, под действием уретана, фенолов и т. д. возникают мутации у дрозофилы и хромосомные перестройки у растений, но они не вызывают появления обратных мутаций у нейроспоры. Причины такого различного

Вещества, повышающие

Мутаген

Иприты*
Перекись водорода
Органические перекиси
Формальдегид
Диазометан
β-Пропиолактон
Кофеин
Уретан
Фенолы
Этиленмин
Кетен
Эпоксиды и диэпоксиды
Пенициллин
Карциногены
Дезоксихолат Na
Акрифлавин
Хлористое железо
Хлористый марганец
Хлористый алюминий

*Как сам ип

Поскольку
действию под
жизненного
действия на
данному ве
результаты,
обработки.
тываемым

эффекта пока неясны. В качестве объяснения можно выдвинуть следующее: некоторые химические мутагены активны лишь в течение определенной стадии развития половых клеток или первичных зародышевых клеток. Например, формальдегид, по-видимому, действует мутагенно лишь на определенную раннюю стадию развития спермиев у дрозофилы, которую Ауэрбах [10] называет «чувствительной» стадией. Кроме того, он действует лишь на мужские гаметы. Обработка формальдегидом взрослых самок или их личинок не оказывает никакого влияния на частоту летальных мутаций в яйцах [10, 275]. Уретан же действует на зрелые спермии дрозофилы и, по-видимому, не оказывает влияния на сперматогонию.

Таблица 5

Вещества, повышающие частоту мутаций и вызывающие разрывы хромосом (316 с дополнениями)

Мутаген	Дрозо- фила	Хромо- сомы растений	Бактерии	Нейро- спора
Иприты*	+	+	+	+
Перекись водорода	?	—	+	+
Органические перекиси	?	+	?	+
Формальдегид	+	+	+	+
Диазометан	+	—	?	+
β -Пропиолактон	?	+	?	+
Кофеин	?	+	+	+
Уретан	+	+	+	—
Фенолы	+	+	+	—
Этиленмин	+	+	?	+
Кетен	+	?	?	—
Эпоксиды и диэпоксиды	+	+	?	+
Пенициллин	?	+	?	?
Карциногены	?	?	+	—
Дезоксихолат Na	?	?	+	?
Акрифлавин	?	+	+	?
Хлористое железо	—	?	+	?
Хлористый марганец	?	?	+	?
Хлористый алюминий	?	+	?	?

*Как сам иприт, так и его азотные аналоги.

Поскольку в опытах по испытанию химических мутагенов их действию подвергается обычно лишь одна стадия развития или часть жизненного цикла, вполне возможно, что при испытании их действия на определенный организм стадия, чувствительная к данному веществу, не обрабатывалась, что дало отрицательные результаты, которые могли бы быть положительными в случае ее обработки. Необходимо также учитывать, что способность испытываемых соединений проникать в клетки для разных организмов различна, а также, возможно, что некоторые вещества могут разло-

житься под действием активных ферментов раньше, чем они смогут вызвать мутацию. Таким образом, получение отрицательных результатов нельзя считать окончательным доказательством того, что данное вещество не мутагенно, не испробовав его действие в разных условиях среды и на разные стадии жизненного цикла.

Иприты, уретан и формальдегид вызывают появление у *D. melanogaster* тех же типов мутаций, что и ионизирующие излучения. Как азотные аналоги иприта, так и перекись водорода вызывают у нейроспоры появление биохимических и морфологических мутаций, а также обратных мутаций к дикому типу. Без сомнения, многие из других активных мутагенов также могут вызывать весь спектр типов мутаций, однако для того, чтобы это установить, необходимы дальнейшие опыты. Несмотря на то, что иприты вызывают все типы мутаций, характеризующие эффект действия ионизирующих излучений, наблюдается некоторое различие в их действии по сравнению с рентгеновскими лучами. При действии ипритов транслокации и крупные делеции возникают гораздо реже, чем под влиянием рентгеновских лучей. Так, Ауэрбах и Робсон [11] нашли, что «эквивалентные» дозы рентгеновских лучей и иприта, если судить по количеству леталей, дали соответственно 30 и 6,7% летальных транслокаций, а крупных делеций под действием рентгеновских лучей возникло примерно вдвое больше, чем под влиянием иприта [11]. Другая существенная разница между эффектом действия рентгеновских лучей и иприта заключается в том, что последний, по-видимому, может оказывать отдаленное действие на возникновение мутаций у дрозофилы. Он может вызвать мутацию в клетке, которая отстоит на одно поколение или даже больше от обработанной клетки [10]. Подобного отдаленного действия рентгеновских лучей имеющимися в настоящее время методами обнаружить не удается.

В результате открытия химических мутагенов возникла новая точка зрения на мутационный процесс. В 30-х годах XX в. господствовал почти мистический взгляд на генетический материал как на внутренне исключительно устойчивый и способный к химическим изменениям лишь при воздействии очень большого количества энергии, передаваемого генам и хромосомам проникающим излучением. В настоящее время мы должны признать, что генетический материал не более устойчив, чем любое другое химическое соединение. Ясно, что господствовавшее ранее мнение о стабильности генетического материала было основано на том, что он защищен окружающим его негенным материалом. Действительно, не будет ничего неожиданного, если выяснится, что генетический материал химически реактивен и при этом изменяется, поскольку данные о том, что мутации находятся под генетическим контролем, сами по себе убедительно говорят в пользу того (если не доказывают), что внегенные химические соединения в клетке могут вызывать мутации. Иначе нельзя рационально объяснить, каким образом один ген оказывает влияние на мутирование другого. В пользу этого взгляда

арит, в частности, данные о
в грибе, такие, как аллели
и различные пур
и. Косвенные данные в
зависимости при аэробном де
появление части сп
катазой и ингибиторам
Если при обработке кет
каталаза и перекиси
водорода исчезает
катазой. Если добавляе
как KCN или азид натрия
отсутствии перекиси вод
водорода, синтезирующая
того, чтобы разлагаться
вание ядов, блокирующи
как и следовало ожидать
ность в опытах с нейро

Совершенно очевидно
вать под влиянием про
генным материалом. Эт
ные выше факты, что
стадии жизненного цик
физиологическим состо
ренцировки условия
и поэтому на некото
могут продуцировать
тивными, а на других

Влияние ви

На возникновен
ческих веществ ока
ботки организма му
влияние на мутаген
мянуты выше. Эфф
ультрафиолетовых
и хромосомных п
зависимости от
В табл. 6 переч
влияющих на м
факторы так и
меняется число
Изменение ч
быть связан
повыша
ским

говорят, в частности, данные о том, что соединения, встречающиеся в природе, такие, как аллилизотиоцианат, перекись водорода, формальдегид и различные пурины, являются эффективными мутагенами. Косвенные данные в пользу того, что перекись водорода, образующаяся при аэробном дыхании, может быть фактором, определяющим появление части спонтанных мутаций, получены в опытах с каталазой и ингибиторами каталазы [316, 714].

Если при обработке конидий нейроспоры или бактерий применяются каталаза и перекись водорода, мутагенная активность перекиси водорода исчезает, вероятно, потому, что H_2O_2 разлагается каталазой. Если добавляются яды, блокирующие каталазу, такие, как KCN или азид натрия, то частота мутаций возрастает даже при отсутствии перекиси водорода, возможно, потому, что перекись водорода, синтезирующаяся в организме, аккумулируется вместо того, чтобы разлагаться собственной каталазой клетки. Использование ядов, блокирующих каталазу наряду с перекисью водорода, как и следовало ожидать, во много раз усиливает мутагенную активность в опытах с нейроспорой.

Совершенно очевидно, что мутации в живой клетке могут возникать под влиянием продуктов ее обмена, которые реагируют с ее генным материалом. Этим, видимо, можно объяснить также описанные выше факты, что мутации иногда чаще возникают на одной стадии жизненного цикла, чем на других, т. е. имеется связь между физиологическим состоянием и частотой мутаций. С ходом дифференцировки условия обмена внутри клеток и тканей изменяются, и поэтому на некоторых стадиях развития химические мутагены могут продуцироваться в концентрациях, которые являются эффективными, а на других — нет.

Влияние внешних факторов на действие мутагенов

На возникновение мутаций под действием излучений и химических веществ оказывают влияние внешние условия в период обработки организма мутагенами. Некоторые из факторов, оказывающих влияние на мутагенный эффект химических веществ, уже были упомянуты выше. Эффективность как ионизирующих излучений, так и ультрафиолетовых лучей при вызывании ими «точечных мутаций» и хромосомных перестроек в значительной степени изменяется в зависимости от физиологического состояния облучаемой клетки. В табл. 6 перечисляются некоторые из ряда известных факторов, влияющих на мутагенность рентгеновских лучей; вероятно, эти факторы так изменяют физиологическое состояние клеток, что меняется число возникающих мутаций.

Изменение частоты мутаций под влиянием этих факторов может быть связано с многими причинами: 1) они могут понижать или повышать частоту мутаций независимо от воздействия рентгеновских лучей; 2) изменять обмен в клетке таким путем, что клетка легче оправляется от «внегенных» эффектов излучений, и поэтому

контроля, несмотря на то, что некоторые из этих факторов оказывают независимое влияние на частоту мутаций. Последние четыре гипотезы в известной степени все могут служить возможным объяснением наблюдаемых явлений; по крайней мере ни одна из них не была полностью устранена. Однако, во всяком случае в настоящее время, подобные явления ясно показывают, что эффект рентгеновских лучей, а возможно, и других ионизирующих излучений, по-видимому, нельзя свести к чисто физическим явлениям, связанным лишь с прямой ионизацией и возбуждением материала генов, независимо от влияния внешней для гена среды. Непосредственный эффект квантов или частиц излучений все же возможен, но, кроме этого прямого эффекта, необходимо допустить наличие указанных выше косвенных факторов, в частности учитывать влияние кислорода и окиси углерода на частоту мутаций.

Наличие непрямого действия излучений, в пользу которого говорят обсуждавшиеся выше наблюдения, получило прямое доказательство в отношении эффекта ультрафиолетовых лучей в исследованиях Стона, Уисса и их сотрудников. Этим исследователям удалось показать, что у бактерии *Staphylococcus aureus* мутации возникают при помещении клеток в питательную среду, предварительно облученную ультрафиолетом [614, 615]. Мутации, выражающиеся в приобретении устойчивости к стрептомицину и пенициллину, а также в неспособности сбраживать маннит, возникали в этом случае в 10—500 раз чаще, чем спонтанные мутации. Облучение среды вместо клеток также вызывает мутации у нейроспоры, хотя и не с такой высокой частотой, какая наблюдается у золотистого стафилококка [675]. Кажется весьма вероятным, что мутагенное вещество, образующееся при облучении питательной среды, представляет собой перекись водорода или, возможно, некоторые органические перекиси [675, 714]. Как отмечено в табл. 5, перекиси обладают мутагенной активностью. Хотя в опытах с рентгеновскими лучами или другими ионизирующими излучениями подобные результаты пока не достигнуты, весьма вероятно, что непосредственные доказательства непрямого действия будут получены, поскольку эти излучения, так же как и ультрафиолетовые лучи, образуют в водных растворах перекись водорода и свободные радикалы: OH , H , HO_2 , а возможно, и другие перекиси и свободные радикалы [15, 20, 681].

Обнаружение непрямого действия излучений на мутационный процесс переносит их мутагенный эффект в область химического мутагенеза. Хотя излучения едва ли оказывают влияние на появление хромосомных aberrаций и генных мутаций лишь посредством химических мутагенов, представляется вероятным, что значительная часть их активности связана с непрямым действием. Поскольку пока нет метода, чтобы количественно определить удельный вес прямого и непрямого воздействия на мутационный процесс, применение гипотезы мишени для истолкования радиогенетических данных приходится считать лишь весьма приближенным подходом.

ТРАНСФОРМАЦИЯ У БАКТЕРИЙ

Генотип и фенотип некоторых штаммов бактерий можно изменять, если штаммы одного генотипа подвергнуть влиянию экстрактов из клеток штамма другого генотипа. На первый взгляд эти изменения могут показаться эквивалентными мутациям и некоторыми авторами были описаны как таковые [48]. Однако из дальнейшего изложения будет ясно, что это не мутации в том смысле, в каком этот термин применялся ранее в этой главе. Поэтому эти явления лучше обозначать менее специфичным термином — трансформация. Впервые это явление было обнаружено Гриффитом на пневмококках [232], а позже тщательно исследовано и более точно охарактеризовано Эвери, Мак-Леодом и Мак-Карти [14], а также Эфрусси-Тэйлор [173].

Большинство штаммов пневмококков имеют две формы, или типа: 1) вирулентную, гладкую S-форму, обладающую полисахаридной капсулой со специфичными антигенными свойствами, и 2) бескапсульную, шероховатую R-форму, не обладающую ни вирулентностью, ни серологической специфичностью S-формы. Эти два типа легко различаются макроскопически по различной морфологии колоний, а также микроскопически по наличию или отсутствию капсулы.

Разные штаммы пневмококков S-формы характеризуются различной серологической специфичностью, связанной с природой их полисахаридных капсул. Так, имеется серия S-штаммов, обозначаемых SII, SIII и т. д., различаемых по типам антител, образование которых обусловлено их полисахаридными антигенами. В серологическом отношении данный S-штамм очень стабилен и прямые мутации от одной S-формы к другой, например SII → SIII, никогда не наблюдались. Однако S-формы спонтанно мутируют в R-формы. Появившиеся таким образом R-формы спонтанно не превращаются снова в S-формы, но если их поместить в среду, содержащую экстракт клеток S-варианта и определенные факторы сыворотки, включающие антитела к R-варианту, то R-форма превратится в S-форму, обладающую серологической специфичностью клеток S-формы, из которых был получен экстракт. Форма, получившаяся путем такой трансформации, будет стойкой до тех пор, пока клетки S-варианта будут производить новые клетки S-варианта с полисахаридными капсулами и пока не произойдет мутация в R-форму.

Активный фактор, присутствующий в экстрактах из клеток S-формы, был хорошо очищен, и оказалось, что это дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) [388]. Такая ничтожно малая часть очищенной ДНК, выделенной из пневмококков типа SIII, как 1 на 600 000 000, достаточна, чтобы произошла трансформация клеток R-формы, получившихся благодаря спонтанной мутации из клеток типа SII (фиг. 21).

Оказалось, что явление трансформации не ограничено лишь изменением капсул у пневмококков. Специфичность белков [13],

Пневмококк SII

Спонтанный

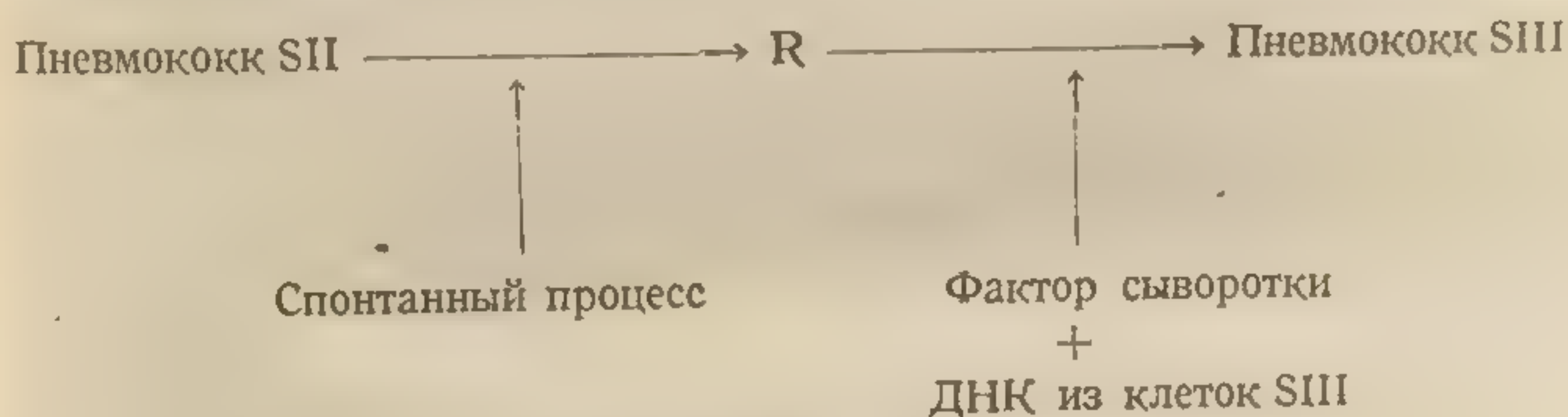
Фиг. 21

Трансформации бактерий возможно, также у пневмококками. Таким образом, явление трансформации как генетическое свойство бактерий.

Наиболее простым объяснением является то, что генетический тип ДНК сохраняется в форме ДНК фактор в форме ДНК. Трансформация добавление к генетическим факторам. Данные, полученные в результате исследования связи этого явления с ДНК, позволяют рассмотреть явление трансформации, при котором ядра пр...

устойчивость к пенициллину [301], морфология колоний [173] — вот некоторые из признаков, на которых было продемонстрировано явление трансформации при применении как неочищенных экстрактов клеток, так и очищенных препаратов ДНК. Хочкиссу [301], применяя экстракт ДНК из клеток гладкой S-формы, устойчивых к пенициллину, удалось показать, что трансформирующий фактор этих клеток может превратить клетки шероховатой R-формы, чувствительные к пенициллину, в клетки S-формы, чувствительные к пенициллину, или в клетки R- или S-формы, устойчивые к пенициллину.

Таким образом, экстракт ДНК содержит по крайней мере два трансформирующих фактора: 1) образования капсулы, 2) устойчивости к пенициллину. Вероятно, экстракты ДНК содержат множество трансформирующих факторов.



Ф и г. 21. Трансформации у пневмококков.

Трансформации были получены у *Hemophilus influenzae* [4] и, возможно, также у *Escherichia coli* [48, 49] и *Shigella paradysenteriae* [679]; методика была примерно та же, что и при работе с пневмококками. Таким образом, трансформацию нельзя рассматривать как явление, свойственное только пневмококкам; скорее как генетическое изменение она имеет общее значение для бактерий.

Наиболее простое объяснение явления трансформации заключается не в том, что это направленная мутация, в которой специфический тип ДНК обуславливает превращение наследственных единиц или генов в клетках, но скорее в том, что трансформирующий фактор в форме ДНК входит в клетку и становится частью ее генотипа. Трансформация, таким образом, представляет собой скорее добавление к генотипу, чем изменение существующего генотипа. Данные, полученные Эфрусси-Тэйлор [173], изучавшей трансформацию морфологии колоний у пневмококков, показывают тесную связь этого явления с рекомбинациями при перекресте, наблюдаемыми у высших организмов. Таким образом, трансформацию можно рассматривать как результат особого типа полового размножения, при котором генетический элемент вводится в качестве замещающего в виде экстракта, а не в виде интактной части чуждого ядра при оплодотворении.

ОБЩИЕ СООБРАЖЕНИЯ О ПРИРОДЕ МУТАЦИЙ И ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Разрешение вопроса о взаимоотношениях между генными мутациями и хромосомными перестройками имеет очень важное значение для нашего понимания механизма мутаций. Это проблема, которой уделялось значительное внимание со стороны генетиков. Некоторые из них считают, что генные мутации и хромосомные перестройки — это два совсем различных класса явлений, другие, — что генные мутации это просто мелкие, невидимые aberrации. Как было указано выше, доказать правоту утверждений тех или других невозможно, но имеется ряд обстоятельств в пользу взгляда, что между этими классами существует различие.

Во-первых, не все генные мутации могут быть результатом потери генетического материала, так как неоднократно было показано, что встречаются обратные мутации от мутантного аллеля к нормальному, а затем от нормального опять к мутантному [195, 319, 333, 473]. Маловероятно, что мутагенные агенты, вызывающие возникновение обратных мутаций, способны вызвать образование определенного гена *de novo* там, где его раньше не было.

Во-вторых, дифференциальный эффект разных типов мутагенов сам по себе говорит о некотором различии в природе мутаций. Выше было указано, что ультрафиолетовые лучи, ионизирующие излучения и химические вещества, такие, как иприт, отличаются друг от друга по способности вызывать генные мутации или хромосомные aberrации. Согласно Стадлеру и Роману [597], рентгеновские лучи вызывают у кукурузы возникновение хромосомных aberrаций, но не вызывают генных мутаций. Отношение между хромосомными aberrациями и генными мутациями у семян ячменя, обработанных рентгеновскими лучами, в большой степени зависит от тепловых шоков, применяемых до или после облучения [85]. Когда семена подвергают комбинированной обработке высокой температурой и рентгеновскими лучами, число обнаруживаемых хромосомных aberrаций уменьшается на 30—40%, а число генных мутаций возрастает на 30—40% или более.

В-третьих, с эволюционной точки зрения одни лишь потери и перестройки генетического материала без генных мутаций не могли бы привести к такой высокой степени генетического разнообразия, которое существует в настоящее время в органическом мире. Если даже потери и перестройки и прибавляют что-то к генетической изменчивости, то ясно, что роль их в этом процессе весьма ограничена. Кроме того, эти явления не могут объяснить, каким образом происходит увеличение количества генетического материала, которое должно происходить в ходе эволюционного процесса [445].

В настоящее время генетики по этому вопросу более или менее единодушно принимают в качестве среднего следующее положение. Генные мутации представляют собой результат пока неизученных

химических изменений в хромосомах, ограниченных участками, в которых локализован мутировавший ген.

Видимые хромосомные перестройки, а также некоторые необнаруживаемые могут приводить к мутациям в результате 1) потери генетического материала, наблюдающейся при нехватках; 2) его увеличения, происходящего при дупликациях; 3) перестройки генетического материала, имеющей место при транслокациях и инверсиях. Считать ли хромосомы макромолекулами или группами макромолекул, в любом случае можно сказать, что в результате этих перестроек произошли химические изменения. Если угодно, их можно называть «архитектурными изменениями» [210]. Однако независимо от того, какой термин употребляется, наши знания о том, что представляют собой мутации, увеличиваются очень незначительно. Нам известно лишь, что некоторые из изменений можно обнаружить в хромосоме, а другие нельзя и что эти изменения могут воспроизводиться, удваиваясь в процессе клеточного деления.

Таким образом, мутацию, вероятно, лучше всего рассматривать как химическое изменение генетического материала. Из опытов с применением мутагенов ясно, что это процесс, требующий притока энергии извне. Даже в тех случаях, когда мутации относят к «спонтанным», данные, имеющиеся в настоящее время, показывают, что химические изменения, происходящие в клетке, могут дать необходимую энергию, так как нормальные химические метаболиты, возможно, играют роль мутагенов. Гены представляют собой сложные молекулы или агрегаты сложных молекул. Эти молекулы, почти несомненно, могут существовать в виде многих изомерных пространственных конфигураций и нести большое разнообразие химических функциональных групп, принимающих участие в том комплексе процессов, который совершается в связи с функцией гена. Можно думать, что среди функциональных групп гена могут быть радикалы $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $>\text{C}=\text{O}$, $-\text{N}$ и различные комбинации вышеуказанных групп, встречающиеся в пептидных, эфирных и полуацетальных связях. Каждая из этих, а также других групп, таких, как аллициклические и гетероциклические биохимические компоненты, весьма реактивна по отношению к ряду химических соединений. В результате реакций могут возникать новые химические связи или расщепляться ранее существовавшие. Таким образом, вполне допустимо, что любая химическая реакция с генным материалом может изменить характер процессов действия гена и в результате привести к изменению пространственной конфигурации макромолекулы, способной к воспроизведению. Если мутация происходит таким путем, любое химическое соединение может быть мутагенным, если оно проникает в клетку в соответствующем месте и в соответствующее время и вступает в реакцию с одной или несколькими функциональными группами генетического материала. Механизм действия излучений при вызывании ими мутаций может быть сходным с вышеизложенным, но, с другой стороны, излучения могут оказывать действие без участия промежуточных реактивных

химических групп. Правильнее, по-видимому, считать, что мутации могут происходить и тем и другим путем, а также путем комбинации этих воздействий.

Конечно, необходимо учитывать, что генетический материал, как и любое химическое соединение, подвергается спонтанным изменениям под влиянием энергии, заключенной внутри самих молекул, согласно законам квантовой механики. Интересное обсуждение этого вопроса можно найти у Шредингера [548]. Частоту спонтанных мутаций, возникающих в результате случайных изменений внутри генных молекул, следует рассматривать как основную спонтанную или «истинную» спонтанную частоту. Для каждого гена должна быть характерна определенная степень неустойчивости, которая приводит к возникающим с известной частотой спонтанным изменениям. «Спонтанные» изменения, возникающие сверх этого, вызываются изменениями в среде, окружающей ген; иначе нельзя объяснить тот факт, почему один и тот же ген в разных условиях среды имеет различную частоту спонтанных мутаций. Благодаря присутствию «естественных» мутагенов можно сделать лишь весьма приблизительные выводы на основании данных, касающихся влияния температуры на частоту спонтанных мутаций. Повышение температуры должно повышать уровень энергии генетического материала и, таким образом, увеличивать частоту мутаций генов, а температура в то же время должна оказывать влияние на образование природных мутагенов внутри клетки и на их активность. Каково это влияние, пока не известно. По-видимому, оно очень сложное, поскольку должны затрагиваться многие вещества и реакции. Это особенно подчеркивается наблюдениями о том, что мутации могут вызываться как холодowymi, так и тепловыми шоками — факт, который не согласуется с чисто физической интерпретацией.

На основе огромного количества экспериментальных данных, касающихся мутационного процесса, удастся сделать относительно небольшое число выводов о природе генетического материала. Данные об огромном количестве наследственных изменений, полученных в результате искусственного вызывания мутаций, оказались очень ценными, так как генетики получили материал для работы, но для понимания этого материала они имели очень небольшое значение.

Однако мы не должны безнадежно смотреть на этот раздел генетической науки, а лучше использовать те данные, которые были получены в результате изучения мутаций. Коротко их можно суммировать следующим образом: 1) генетически значимый материал локализован в хромосомах или представляет собой хромосому. Из многих тысяч мутаций, изучавшихся генетическими методами, лишь небольшой процент наследовался вне хромосом; 2) хромосомы расчленены на функциональные единицы — гены, которые, хотя и связаны с другими в своем влиянии на развитие фенотипа, тем не менее, видимо, все же существуют как физические и биологические

единицы; 3) гены могут существовать, которые, вероятно, существуют при изменении этих генов в хромосомах; 4) фенотипическое выражение генов показывает, что гены, находящиеся в хромосомах, присущи известной среде; 5) в необычной для него среде гены, наиболее часто под влиянием условий среды, вызывают мутации, вероятно, обусловленные табулитом самой клетки, и зависят от случайных изменений.

Для изучения химического мутационного процесса, согласно данным, имеется высокая степень сохранения нуклеиновых кислот под влиянием ультрафиолета. Этот факт указывает на то, что нуклеиновые кислоты (по весу) составляют основную часть трансформирующей среды. Дезоксирибонуклеиновые кислоты представляют собой основную часть. Однако в этой связи имеются некоторые вещества, например белки.

единицы ; 3) гены могут существовать в различных формах — аллелях, которые, вероятно, связаны с различиями в химическом состоянии ; при изменении этих состояний цитологически не удастся наблюдать никаких нарушений структуры хромосом ; 4) расположение генов в хромосомах — важный фактор, определяющий их фенотипическое выражение ; 5) высокая степень стабильности большинства генов показывает, что они представляют собой химические соединения, находящиеся в относительно защищенной среде. Каждому гену присуща известная степень стабильности, но вне клетки в необычной для него среде он, без сомнения, разрушится. Несмотря на их «забуференность», гены «спонтанно» изменяются, возможно, наиболее часто под влиянием как химических, так и физических условий среды. «Спонтанная», или «нормальная», частота мутаций, вероятно, обуславливается химическим воздействием метаболитов самой клетки, и лишь незначительная часть мутаций зависит от случайных изменений внутри самого гена.

Для изучения химического состава генного материала исследование мутационного процесса дало очень мало ; можно лишь сказать, что, согласно данным, полученным некоторыми исследователями, имеется высокая степень совпадения между спектром поглощения нуклеиновых кислот и спектром мутагенной активности ультрафиолета. Этот факт наряду с данными о том, что нуклеиновые кислоты (по весу) составляют значительную часть хромосомы и трансформирующий фактор бактерий, по-видимому, является дезоксирибонуклеиновой кислотой, показывает, что нуклеиновые кислоты представляют собой важный компонент в структуре гена. Однако в этой связи не следует недооценивать значения других веществ, например белков.

Глава IV

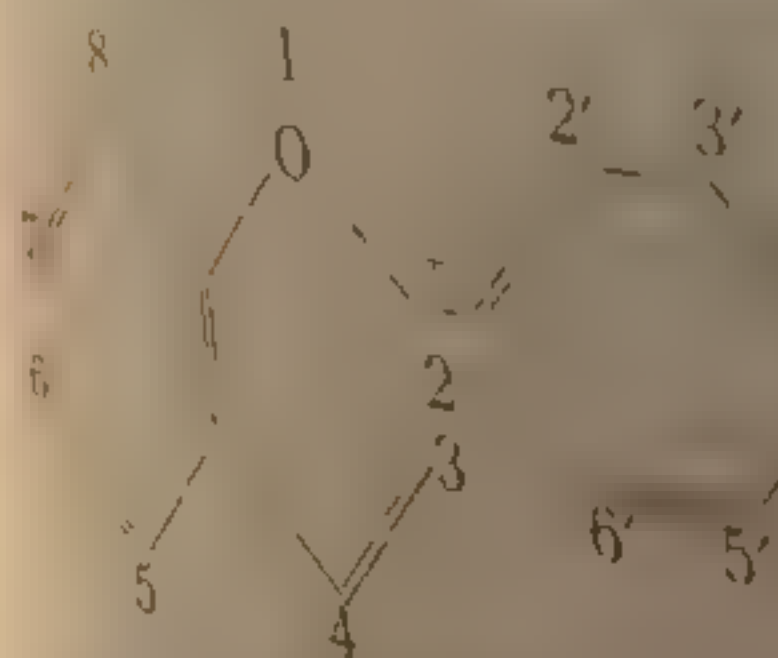
НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ХИМИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ

У животных и растений структурные и функциональные различия всегда связаны с химическими различиями. Некоторые из этих химических различий более простого типа могут быть связаны с качественными или количественными изменениями соединений, которые можно выделить и точно идентифицировать; другие же более сложные отличия могут быть связаны с белками или даже пространственным распределением химических соединений в клетке или частях организма. В любом случае независимо от того, легко или трудно анализировать химические различия, высказанное выше общее положение все равно оказывается правильным и исследование природы функции гена всегда базируется на этом положении как на основной предпосылке. Таким образом, переходя к проблеме функции гена, мы начнем с вопроса о наследовании химических различий. Этот вопрос можно анализировать по крайней мере двумя путями: 1) исследуя различия в химических реакциях — динамический подход или 2) исследуя конечные продукты этих реакций — более статичный подход. Оба они конечно связаны между собой, поскольку продукт есть результат реакции, но для того, чтобы детально изучить реакцию, необходимо исследовать, кроме конечных продуктов, также реагирующие вещества, а это не всегда возможно даже при имеющихся в настоящее время больших успехах биохимии. Настоящая глава поэтому посвящена главным образом наследованию различий в химическом составе. Точнее, в ней идет речь о наследовании таких веществ, для которых химики и биологи разработали реакции, позволяющие определить качественные и количественные различия.

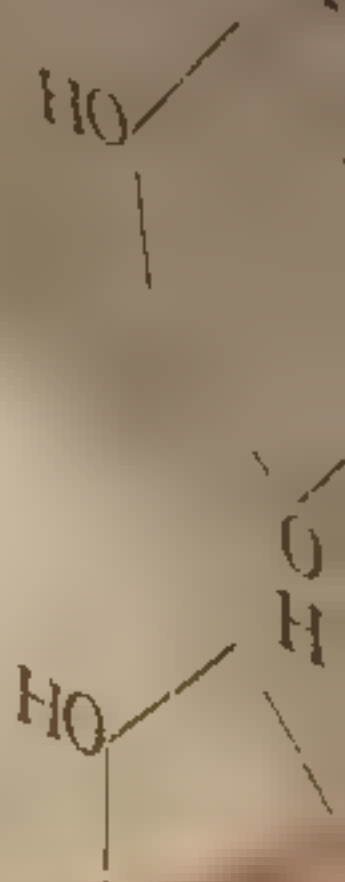
Генетик, желающий изучать наследование химических различий, сталкивается больше с химическими проблемами, а не с генетическими. Поэтому наилучшие результаты были получены в тех работах, где было установлено тесное сотрудничество между химиками и биологами. В литературе описано много примеров химических различий, генетическая сторона которых была разработана очень тщательно, но химическая была изучена слабо. Это касается, например, животных пигментов, в частности меланинов. Вопрос о наследовании подобного типа веществ будет обсуждаться в следующих главах. Вначале будет сделана попытка создать какую-то

АНТОЦИАНЫ И АНТОКСАНТИНЫ —
Антоцианы и антоксантин —
являющиеся в растворе с со-
ветственными за большую
растений, а кроме того
их изучена достаточно
достоинство в отношении
и идентифицировать с
эти вещества самими у
химических различий у расте-

Антоцианы (или антоциани-
ны) — 2-фенилбензопирилы
фенил-бензопирилевого ядра
образованные здесь аллиловые



Для простоты ионные стр-
1, 2, 3 и 4.
Гидроксилирование эт-
под названием антоциани-
3, 5, 7, 4'-тетраокси-2-ф-



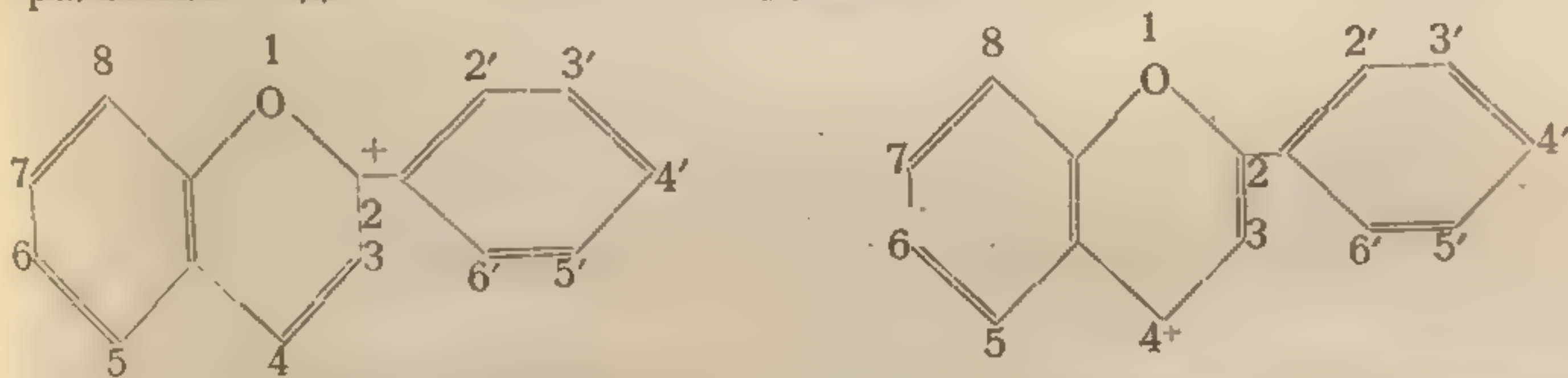
основу, обратившись к наследованию достаточно хорошо изученных в химическом отношении соединений для того, чтобы попытаться сделать заключение о том, что же именно наследуется.

АНТОЦИАНЫ И АНТОКСАНТИНЫ У РАСТЕНИЙ

Антоцианы и антоксантины — это растворимые в воде пигменты, находящиеся в растворенном состоянии в клеточном соке растений. Они ответственны за большую часть окрасок цветков и плодов высших растений, а кроме того, и некоторых окрасок листьев. Химия их изучена достаточно хорошо, а легкость, с которой их удается извлечь в относительно чистом виде из растительного материала и идентифицировать с помощью простых цветных реакций, делает эти вещества самыми удобными для изучения наследования химических различий у растений.

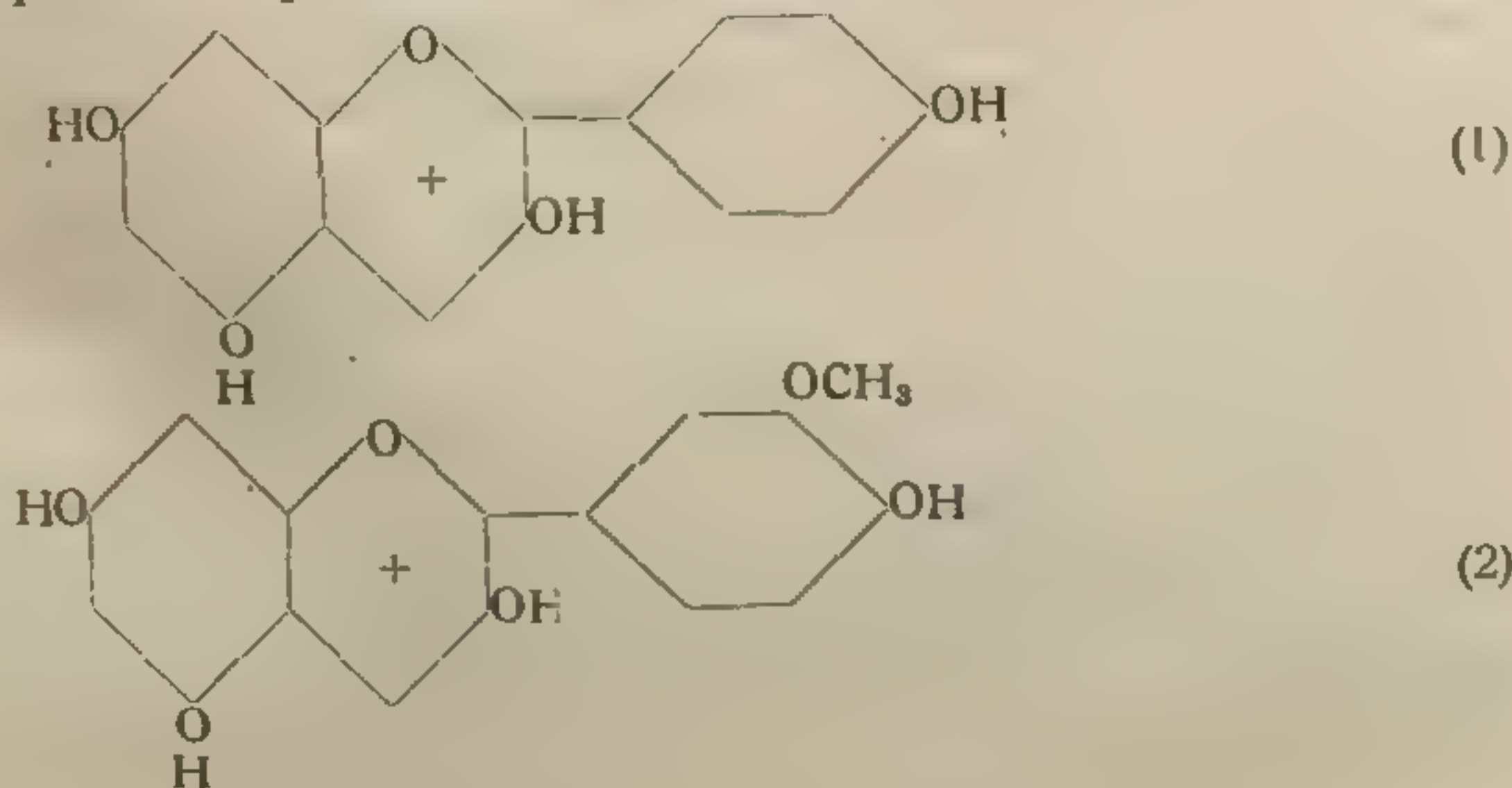
Химия

Антоцианы (или антоцианины) представляют собой гликозиды полиокси-2-фенилбензопирилевых солей. За ионные свойства 2-фенил-бензопирилевого ядра ответственны две резонирующие изобразенные здесь аллиловые структуры [742].



Для простоты ионные структуры будут обозначены + в кольцах 1, 2, 3 и 4.

Гидрокселирование этого ядра дает ряд соединений, известных под названием антоцианидинов, как например пеларгонидин или 3, 5, 7, 4'-тетраокси-2-фенилбензопирилий (1).



Метилирование или метоксилирование в положении 3', а также в положениях 3' и 5' обуславливают образование различных других типов антоцианидинов, как пеонидин (2), представляющий собой антоцианидинцианидин (табл. 7), метилированный в положении 3'.

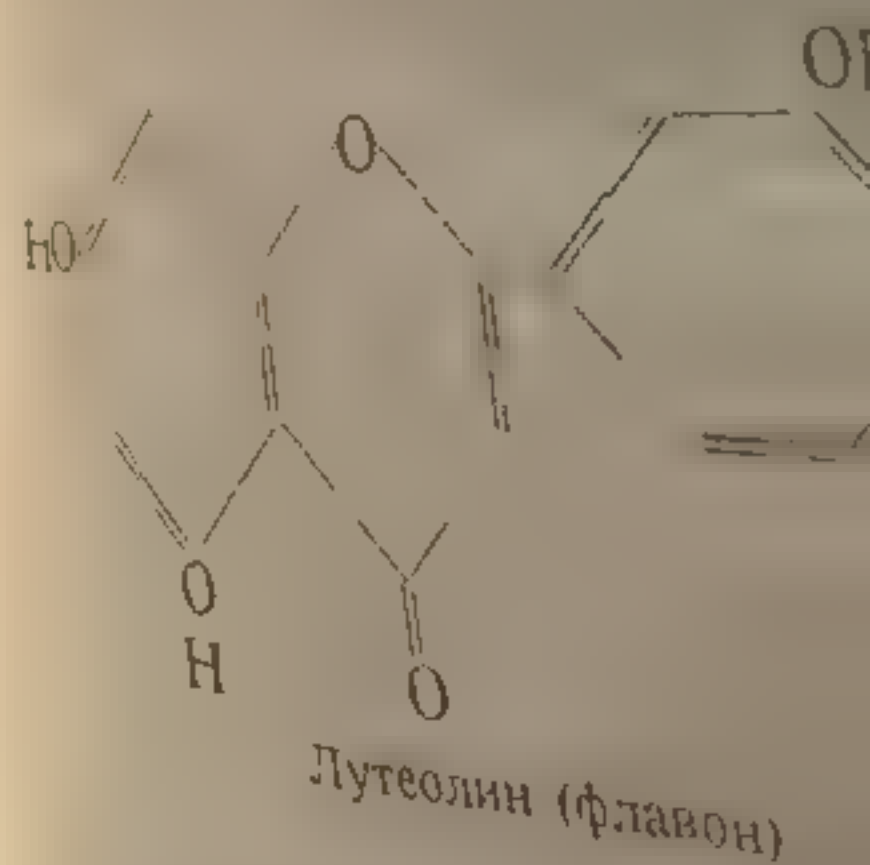
Таблица 7

Обычные антоцианы и антоксантины, встречающиеся в природе

Пигмент	Химическая структура
Антоцианидины	
Пеларгонидин	3, 5, 7, 4'-Тетраокси-2-фенилбензопирилий
Цианидин	3, 5, 7, 3', 4'-Пентаокси-2-фенилбензопирилий
Дельфинидин	3, 5, 7, 3', 4', 5'-Гексаокси-2-фенилбензопирилий
Пеонидин	3, 5, 7, 4'-Тетраокси-3'-метокси-2-фенилбензопирилий
Мальвидин	3, 5, 7, 4'-Тетраокси-3', 5'-диметокси-2-фенилбензопирилий
Антоцианы	
Пеларгонин	Пеларгонидин-3,5-диглюкозид
Цианин	Цианидин-3,5-диглюкозид
Каллистрепин	Пеларгонидин-3-моноголюкозид
Хризантемин	Цианидин-3-моноголюкозид
Примулин	Мальвидин-3-моноголактозид
Пеонин	Пеонидин-3,5-диглюкозид
Антоксантины	
Кверцитин	3, 5, 7, 3', 4'-Пентаокси-2-фенилбензопирон
Аутеолин	5, 7, 3', 4'-Тетраокси-2-фенилбензопирон
Кемпферол	3, 5, 7, 4'-Триокси-2-фенилбензопирон
Апегинин	5, 7, 4'-Триокси-2-фенилбензопирон

Антоцианидины редко встречаются в природе в виде аглюконов. Когда они не содержат сахара, они нерастворимы в воде. Обычно антоцианидины связаны с гексозами (глюкозой и галактозой) или с дисахаридами, такими, как гентиобиоза. Молекула или молекулы сахара связаны с антоцианидином гликозидной связью. Иногда обнаруживается метилпентоза (рамноза), а также вещества, образующиеся при ацилировании органическими кислотами, такими, как *n*-оксибензойная кислота, малоновая кислота, *n*-кумаровая кислота и *n*-оксицинамовая кислота. С антоцианидинами могут быть связаны одна или две молекулы сахара. Один из сахаров почти всегда занимает положение 3; если присутствует другой, то он занимает положение 5.

Химическая связь сахара или сахаров с антоцианидинами дает растворимые в воде антоцианы, цвет которых варьирует от красного через лиловый к синему. Степень гидроксирования и метоксилирования 2-фенилбензопирилиевого ядра — важный фактор в определении цвета антоциана: увеличение числа гидроксильных групп усиливает интенсивность синей окраски, а метоксильных — красной. Добавление лишней молекулы сахара к моноголикозиду анто-

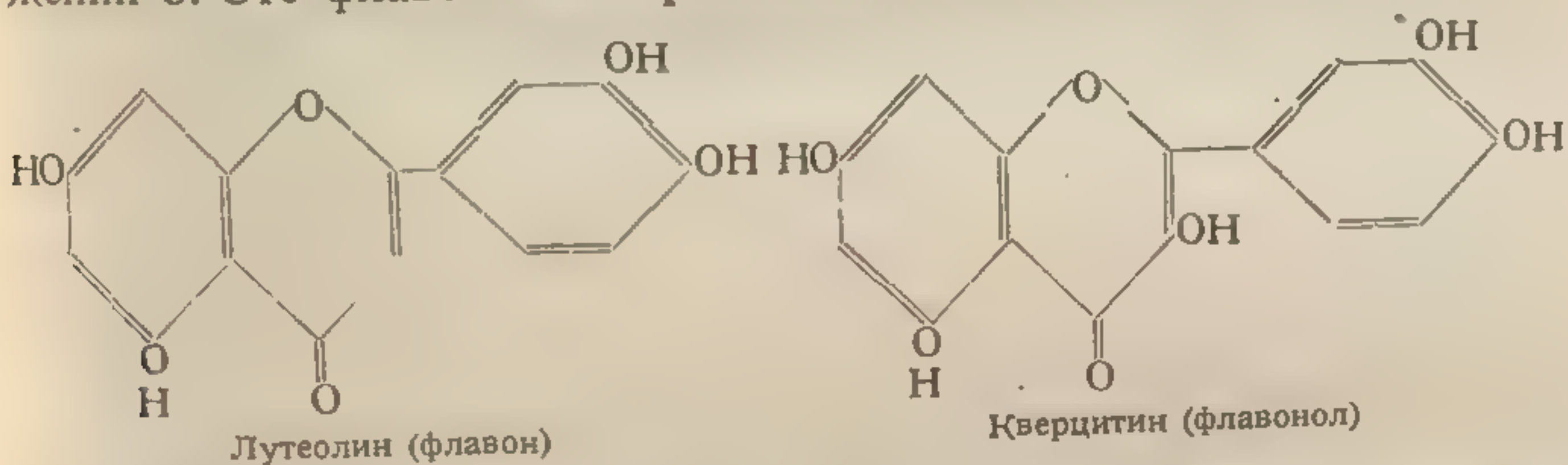


Окраска антоксантинов, до яркой желтой, зависит от наличия гидроксильных групп в 2-фенилбензопирилийной окраски, однако эффект пока не изучен. pH на по-видимому, не оказывает

Данные о наследовании окраски в результате окисления в Институте плодово-ягодного флороведения в 1913 г. исследования этого пигмента различий окраски. Обзор результатов Прайсом [350] и другими несколькими

циану усиливает синеву. pH клеточного сока также имеет значение, так как антоцианидины представляют собой его цветные индикаторы. Например, цианин при pH 3,0 — красный, при pH 8,5 — фиолетовый, при pH 11 — синий. Кроме указанных выше факторов, на окончательную окраску лепестков цветка, содержащих антоцианы, оказывает влияние присутствие антоксантинов или в некоторых случаях танинов. Это обуславливается не только смешением антоцианов с антоксантинами, но также образованием слабой химической связи между молекулами этих двух типов пигментов, что приводит к явлению копигментации. Вообще копигментация приводит к усилению интенсивности синей окраски по сравнению с той, которая обуславливается присутствием одного антоциана.

Антоксантины, по-видимому, встречаются в растениях либо в виде аглюконов, либо гликозидов. Строение их сходно со структурой антоцианов, но они окислены в положении 4. Так же как в антоцианах, гидроксильные группы у них, как правило, находятся в положении 5 и 7, но было показано, что две группы антоксантинов отличаются тем, что у них имеется гидроксильная группа в положении 3. Это флавонолы и флавоны.



Окраска антоксантинов варьирует от бледной, цвета слоновой кости, до яркой желтой. Вообще увеличение числа гидроксильных групп в 2-фенилбензопириновом ядре усиливает интенсивность желтой окраски, однако эффект добавления лишних молекул сахара пока не изучен. pH на окраску, обуславливаемую антоксантинами, по-видимому, не оказывает влияния или влияет очень слабо.

Наследование

Данные о наследовании окраски цветков получены главным образом в результате работы группы английских генетиков и химиков в Институте плодоводства Джона Инеса. Начиная с появившегося в 1913 г. исследования Онсло и Бассета [464], посвященного флавоновым пигментам львиного зева (*Antirrhinum majus*), работники этого института изучали химическую основу наследственных различий окраски цветков у большого числа культурных растений. Обзор результатов их широких исследований дан Лоуренсом и Прайсом [350] и Лоуренсом [349]. Мы ограничимся лишь обсуждением нескольких примеров.

Резкие изменения окраски цветка могут быть вызваны заменой одного лишь гена. Например, белая или желтая окраска цветков львиного зева зависит от определенной комбинации одной пары аллелей Y и y ; желтая окраска цветков обусловлена генотипами YY или Yy . В данном случае желтый цвет зависит от смеси двух антоксантинов — лутеолина и апегинина [464, 465], которые отсутствуют (по крайней мере их не удастся обнаружить) в рецессивных белых цветках yy . Другие примеры случаев, в которых наличие пигмента или его отсутствие определяется действием одного доминантного гена, приведены в табл. 8. Необходимо отметить, что в трех из приведенных примеров, а именно у примулы, желтофиоли и гвоздики, цветки рецессивной формы могут иметь желтый цвет или цвет слоновой кости. Причина этого заключается в том, что замена данного гена на основной антоксантиновый пигмент влияния не оказывает; в указанных трех случаях она заметно влияет лишь на антоциан. Тип присутствующего антоциана определяется другими генами. У желтофиоли, душистого горошка и гвоздики для образования вышеуказанных пигментов необходимо присутствие в доминантном состоянии двух генов. Так, например, растения душистого горошка с генотипом $CCRr$, $CcRr$, $CcRR$, $CCRr$ — все имеют цветки, содержащие антоциан, тогда как цветки растений $ccrr$, $Ccrr$, $CCrr$, $ccRR$ и $ccRr$ его не содержат. Таким образом, можно сказать, что у душистого горошка и желтофиоли ген C является дополнительным для R или наоборот. Подобная же связь наблюдается между генами Y и A у гвоздики.

Таблица 8
Несколько примеров простого наследования окраски цветков, в которых наличие пигмента обусловлено доминантным геном

Пигменты, имеющиеся у доминантной формы	Фенотип рецессива	Обозначение генов	Растение	Литература
Лутеолин и апегинин (желтые)	Белый	Y	Львиный зев <i>Antirrhinum majus</i>	[464]
Мальвидин (красный)	Цвета слоновой кости или желтый	B	Примула <i>Primula acaulis</i>	[84]
Цианидин или пеларгонидин	Желтый	C, R	Желтофиоль <i>Cheiranthus cheiri</i>	[534]
Цианидин, пеларгонидин или дельфинидин	Белый	C, R	Душистый горошек <i>Lathyrus odoratus</i>	[554]
Цианидин или пеларгонидин	Желтый или белый	Y, A	Гвоздика <i>Dianthus carvophyllus</i>	[193]

Наследование качественных различий среди антоцианов изучалось на многих видах. Было обнаружено, что по простым менделевским законам наследуются три типа изменений молекулы антоциана: 1) гидроксилирование, 2) метоксилирование и 3) число молекул сахара, связанных с ядром антоцианидина. Исследование гибридов *Streptocarpus* sp. Лауренсом, Скот-Монкриф и Старджес [352] показало, что наследование всех этих трех различий связано с тремя генами O, R и D. На фиг. 22 показано, какое влияние на пигменты цветков гибридов *Streptocarpus*, полученных от скрещивания двух нерасщепляющихся диких видов *S. Rexii* и *S. Dunii*, имеющих соответственно синие и красные цветки, производит замена доминантных аллелей рецессивными для генов R и r, O и o, D и d.

Поскольку гены R, D и O, по-видимому, полностью доминируют над своими рецессивными аллелями, обозначения генотипов на фиг. 22 сокращены до минимума, позволяющего описать генотип данной комбинации. Так, обозначение rod равноценно rroodd, RoD — RrooDd, RRooDD, RrooDD и RRooDd и т. д. Подобный тип сокращенного обозначения будет употребляться на протяжении этой книги в тех случаях, когда наблюдается полное доминирование и вовлечен ряд генов.

Если ген r заменяется геном R, то наблюдается большая степень окисления как в растениях, содержащих смесь моно- и дигликозидов (rod), так и в растениях, где имеются лишь дигликозиды (roD). Окисление может приводить просто к гидроксилированию — в этом случае образуются производные цианидина или к метоксилированию с образованием производных пеонидина. Дальнейшее окисление в положениях 3' и 5', вызываемое заменой гена o геном O, приводит лишь к метоксилированию с образованием производных мальвидина. Состояние генов R в растениях с генотипом O не имеет значения, поскольку растения OR и Or в отношении степени окисления фенотипически идентичны. Таким образом, ген O «маскирует» эффект гена R, или эпистатичен по отношению к R. Термин «эпистаз» часто употребляется для обозначения «доминирования» гена над неаллеломорфным геном, как это показано в данном примере.

Ген D вызывает появление почти чистых 3,5-дигликозидов вместо смеси моно- и дигликозидов. Это происходит независимо от состояния двух других генов R и O.

Подводя итог, можно сказать, что гены R и O определяют степень окисления антоцианидинов. R приводит к окислению (либо гидроксилированию, либо метоксилированию) в положении 3', а ген O — в положении как 3', так и 4'. Ген D не оказывает влияния на процесс окисления, но определяет увеличение количества 3,5-дигликозидов.

Наследование качественных различий антоцианидинов у *Streptocarpus*, по существу, сходно с закономерностями, наблюдаемыми у других растений. Несколько наиболее интересных примеров приведено в табл. 9. Отметим, что, так же как у *Streptocarpus*, наиболее окисленное состояние антоцианидинов доминирует над менее окисленной формой. Это, по-видимому, общее правило, хотя оно и не

является постоянным. Известны некоторые исключения, имеющие большое значение, например у *Verbena*. У гибридов этого рода растений дельфинидин в наследовании иногда доминирует над пеларгонидином, а иногда рецессивен к нему, что зависит от состояния других генов [38].

Таблица 9

Наследственные различия в антоцианидинах

Доминантный	Рецессивный	Обозначение гена	Растение	Литература
Цианидин	Пеларгонидин	E	<i>Papaver rhoeas</i> (мак)	[554]
«	«	B	<i>Antirrhinum majus</i> (львиный зев)	[554]
«	«	P	<i>Cherianthus cheiri</i> (желтофиоль)	[554]
«	«	R	<i>Dianthus caryophyllus</i> (гвоздика)	[193]
«	«	Sm*	<i>Lathyrus odoratus</i> (душистый горошек)	[40]
Пеонидин	«	Mg	<i>Pharbitis nil</i> (ипомея)	[248]
Мальвидин	«	K	<i>Primula sinensis</i> (примула)	[138]
Дельфинидин	Цианидин	E*	<i>Lathyrus odoratus</i> (душистый горошек)	[40]

*У душистого горошка ген E эпистатичен к Sm, как O к R у *Streptocarpus* (см. стр. 87).

Наблюдения над наследованием различий гликозидных форм антоцианов вначале ограничивались изучением наследования моно- и дигликозидов. Было обнаружено, что у *Streptocarpus*, так же как у гвоздики [193] и хризантем [699], имеются линии, у которых в антоцианах цветков имеются либо 3-моноголикозиды, либо 3,5-дигликозиды. Закономерности их наследования очень просты: наличие одного или другого зависит от одного гена, причем 3,5-дигликозиды доминируют над 3-моноголикозидами. *Verbena* [38], так же как при наследовании степени окисления, представляет собой исключение, поскольку в некоторых линиях дигликозиды доминируют над моноголикозидами, а в других они рецессивны.

Как было упомянуто выше, на окраску цветка может оказывать значительное влияние pH среды, в которой растворен антоциан. У многих исследованных видов растений с разной окраской цветков были обнаружены различные pH клеточного сока лепестков. По крайней мере у трех из этих видов: *Primula sinensis*, *Papaver rhoeas* [554] и *Primula acaulis* [84], различия pH наследуются по простым законам Менделя, причем низкое pH доминирует над высоким. Различия в pH составляют примерно 0,5; они вполне достаточны, чтобы вызвать изменение цвета некоторых антоцианов. Различие в pH наблюдается, по-видимому, лишь в клеточном соке лепестков;

Синий
3,5-дигликозиды мальвидина

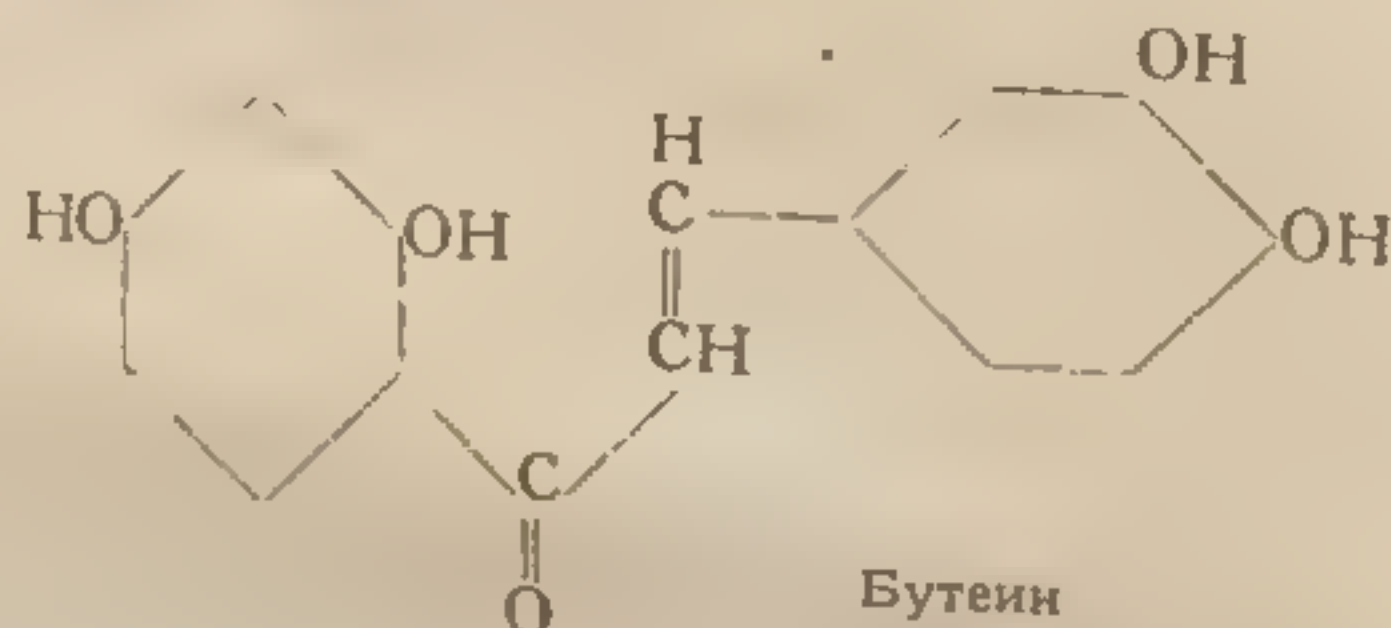
Производные мальвидина

Фиг. 22. Влияние замены одних генов другими у *Streptocarpus* sp. на степень окисления и число групп сахаров в антоцианах цветков; S — сахар [352].

других частей растения оно не касается, если они также не содержат антоцианов. Это наводит на мысль, что более низкое pH в лепестках некоторых линий каким-то образом связано с типом антоцианов или их предшественников, образующихся в лепестках.

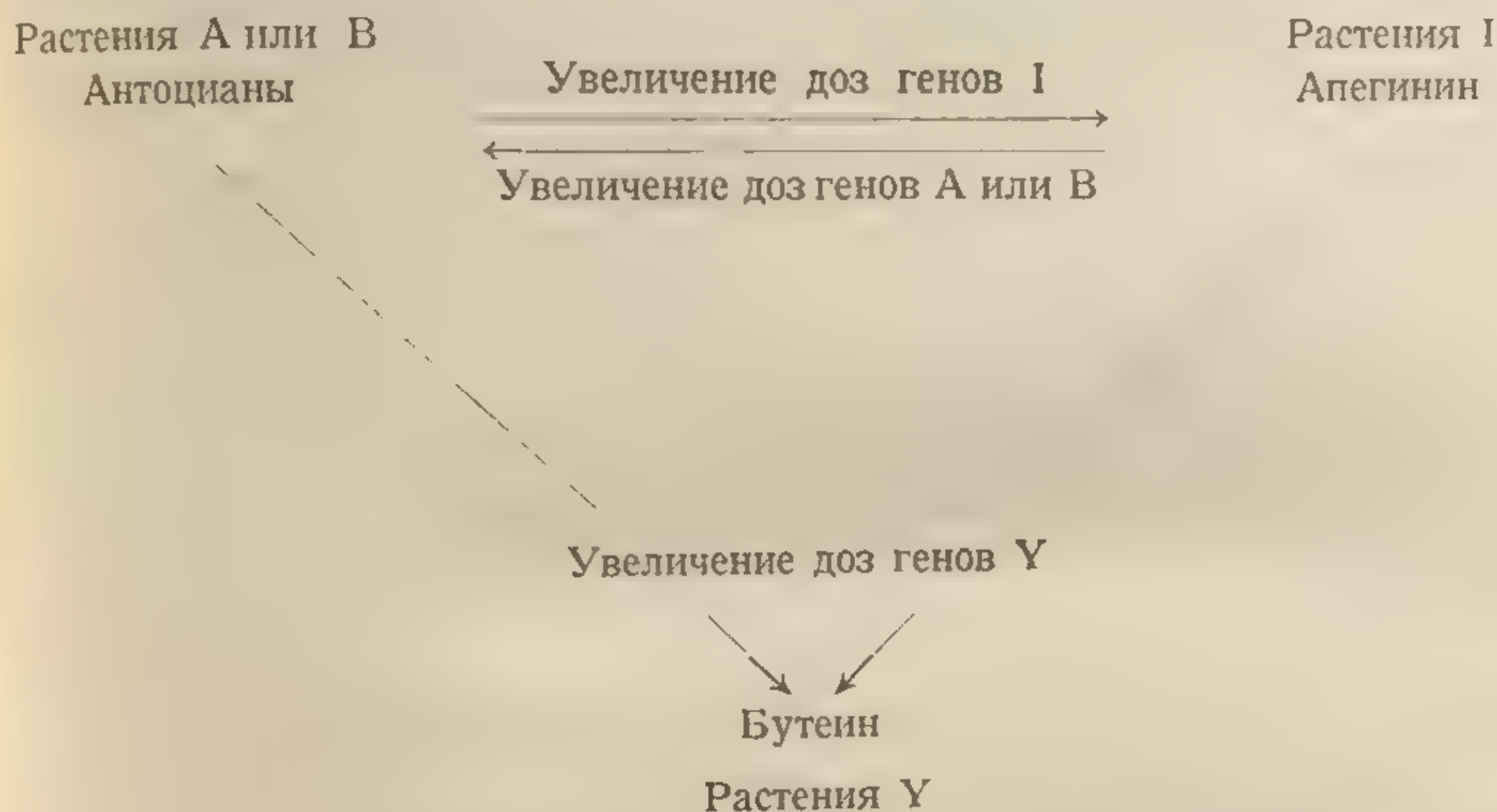
Данные по скрещиваниям, поставленным для анализа наследования антоксантинов, немногочисленны, и их не так просто проанализировать генетически, как данные по антоцианам. Поскольку вообще различия в антоксантинах связаны с различиями в антоцианах, наследование этих двух типов пигментов трудно изучать в отдельности. Наиболее ясный пример их взаимоотношений приведен в работе Лауренса и Скот-Монкриф [351] по изучению наследования окраски цветка у георгины *Dahlia variabilis*. Это растение представляет собой аллооктоплоид (октоплоид, наследование у которого происходит сходно с тетраплоидом-тетрасомиком), что позволяет обнаруживать у него пять разных комбинаций одной пары аллелей: AAAA, AAAa, AAaa, Aaaa и aaaa.

Известно, что окраску цветка определяют четыре доминантных гена. Каждый из них имеет рецессивный аллель, который, по-видимому, вообще не может вызвать образования пигмента. Доминантные гены А и В непосредственно определяют образование антоцианов, содержащих либо цианидин, либо пеларгонидин. Наличие гена У сопровождается присутствием халкона бутеина, обнаруженного у георгины Прайсом [496]. Четвертый ген I связан с образованием флавона апегинина.



Рецессивные растения, гомозиготные по генам а, в, у и i, т. е. aaaa, bbbb, uuuu и iiii, не имеют пигментов в цветках, но наличие одного или большего числа доминантных аллелей этих генов приводит к появлению небольшого количества пигмента. Однако образование всех трех пигментов в одном цветке под действием доминантных генов А, В, У и I процесс не простой (фиг. 23). Количество одного из образующихся пигментов в значительной степени может зависеть от образования другого. Например, у рецессивных растений, гомозиготных по у, а, и в, но имеющих доминантный ген I, в цветках появляется апегинин, причем количество его зависит от числа имеющих аллелей I. У растений iiii его мало, а в генотипах IIIi, IIIi и IIII количество его одинаково и является максимальным из того, что может быть достигнуто. Таким образом, I полностью доминирует над i, если он присутствует в двойном количестве, а другие гены находятся в рецессивном состоянии.

Если у рецессивных растений, гомозиготных по генам y , i , b , имеется доминантный ген A , то в цветках появляется антоциан, причем количество его возрастает с увеличением дозы гена A от $Aaaa$ до $AAAA$. Если у растения одновременно присутствуют гены A и I , то наблюдается интересное их действие на образование апегинина и антоциана. В тех растениях, где имеется один ген A , а ген I повторяется три или четыре раза, антоциана нет, а апегинин имеется. При других возможных численных комбинациях разных генов A и



Ф и г. 23. Взаимоотношения между антоцианами, бутеином и апегинином у *Dahlia variabilis*, связанные с генами A , B , Y и I .

I присутствуют как антоцианы, так и апегинин. Относительная концентрация каждого из двух пигментов зависит от численного соотношения генов A и I . Введение все большего числа генов I в растения A вызывает уменьшение количества антоциана наряду с возрастанием содержания апегинина; с другой стороны, увеличение дозы генов A сопровождается возрастанием содержания антоциана и соответственно уменьшением концентрации апегинина. Таким образом, наблюдается обратное соотношение между образованием антоциана и апегинина, что объясняется тем, что оба эти вещества конкурируют в процессе обмена за общий предшественник, количество которого ограничено. Дальнейшее обсуждение этих взаимоотношений излагается в гл. X. В настоящий момент достаточно отметить, что у *Dahlia variabilis* наблюдается связь в наследовании этих двух пигментов.

Образование бутеина в растениях, рецессивных по a и b , обнаруживает закономерности, сходные с вышеописанными. В растениях $Yuuu$ $IIii$ имеются лишь следы апегинина, но значительное количество бутеина, тогда как в растениях $YUuu$ $IIii$ апегинин, по-видимому, полностью заменен бутеином. Кроме того, изучение

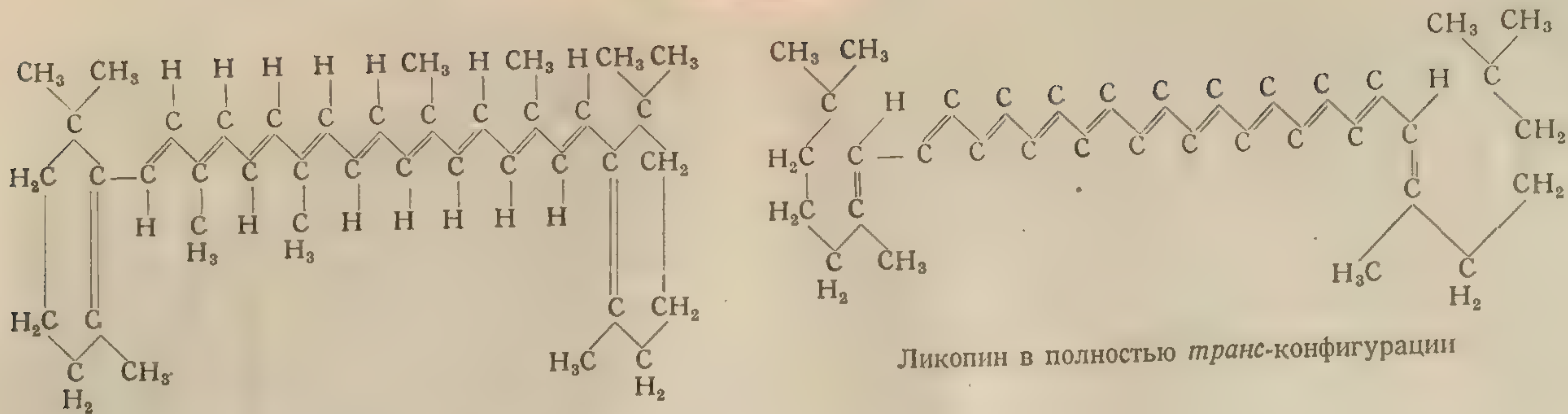
комбинаций различных доз генов Y и B, а также Y и A показало, что бутенин образуется за счет антоциана. Таким образом, кажется очевидным, что наследование всех трех пигментов — антоцианов, антоксантинов и халконов — связано; поэтому, возможно, связан и их биогенез.

Чтобы связать между собой генетические и химические данные о пигментах цветков, Робинсон [518] высказал предположение о существовании бесцветного промежуточного вещества, или лейкоформы, которое он считал предшественником всех антоцианидинов, антоксантинов и родственных им пигментов. На фиг. 24 приводится формула этого вещества и его предполагаемых производных. Наличие в лепестках цветков лейкопроизводных, подобных изображенным на фиг. 24 или имеющих сходную структуру, твердо установлено [519]. Они легко превращаются в окрашенные пигменты при обработке неорганическими кислотами. Кроме того, Стефенс [599] убедительно показал, что у азиатского хлопчатника (*Gossypium* sp.) в процессе морфогенеза цветков происходит превращение кверцитина в цианидин через бесцветную промежуточную форму. Соответствующее восстановление кверцитина в цианидин может происходить *in vitro* с образованием промежуточного лейкосоединения, поглощение которым ультрафиолета сходно с таковым у соединения, образующегося *in vivo*, или идентично ему [600].

Схема, приведенная на фиг. 24, очень полезна для истолкования данных, полученных у *Dahlia* Лауренсом и Скот-Монкриф, поскольку ясно, что если промежуточное лейкосоединение образуется в ограниченном количестве, то в зависимости от условий обмена некоторые пигменты будут синтезироваться за счет других. Эта схема позволяет также объяснить превращение одного пигмента в другой через промежуточное лейкосоединение, что обнаружено у хлопчатника, а также наблюдается и у других растений. Закономерности наследования разных типов антоцианидинов показывают, что они могут образовываться из общей промежуточной формы, такой, как цианидин. Предполагается, что цианидин является предшественником пеларгонидина, дельфинидина и их различных метилированных производных, поскольку он является наиболее широко распространенным антоцианидином в природе [39]. Кроме того, тот факт, что он встречается почти исключительно в наиболее примитивных цветковых растениях, говорит о том, что он играет роль предшественника в происхождении других антоцианидинов.

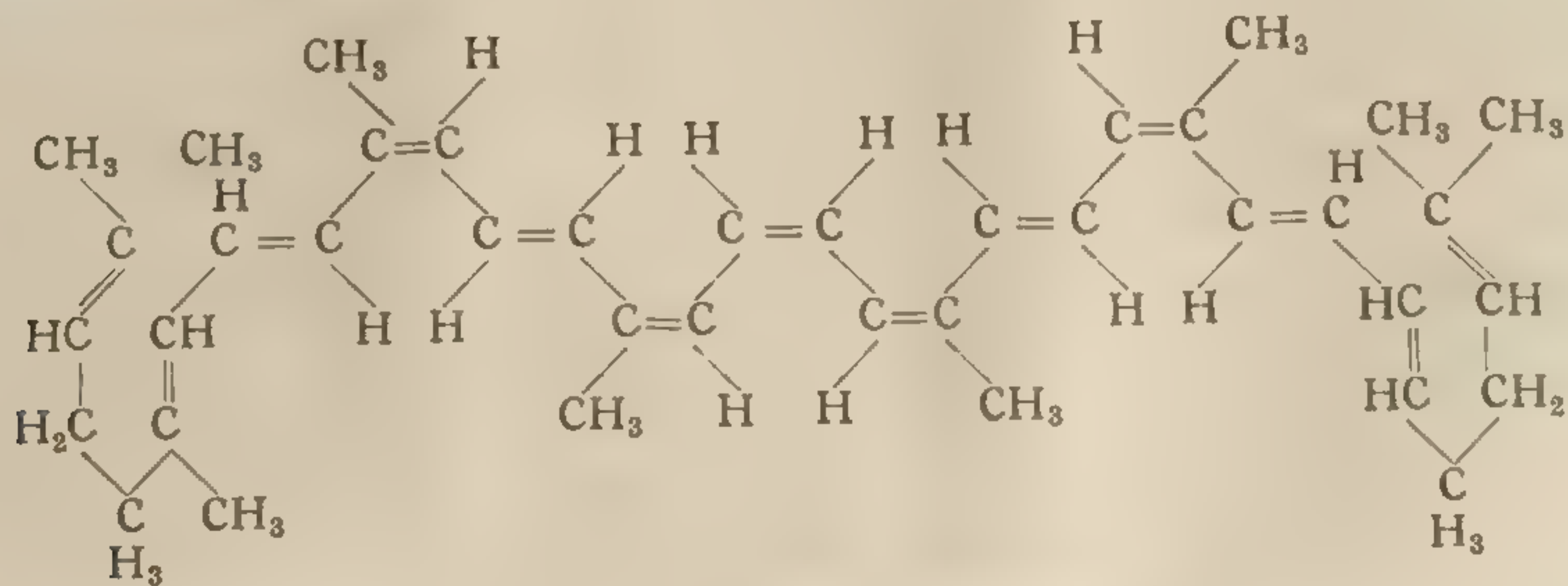
КАРОТИНОИДЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ В РАСТЕНИЯХ

Каротиноиды — это нерастворимые в воде пигменты, образуемые в пластидах и обычно удерживаемые внутри них. Их окраска варьирует от желтой к оранжевой и красной. Некоторые из них бесцветны и, возможно, являются предшественниками окрашенных форм. Из 80 известных в настоящее время природных каротиноидов у 35 установлено их химическое строение [321]. В основе строения каро-



β -Каротин
Полностью *транс*-конфигурация

Ликопин в полностью *транс*-конфигурации



Проликопин (изомер ликопина)
Предполагаемая структура с 5 двойными связями в *цис*-конфигурации

Фиг. 25. Строение основных типов каротиноидов, встречающихся в плодах томатов.
Строение ликопина в полностью *транс*-конфигурации идентично β -каротину: отсутствуют лишь кольца на концах цепей. В средней части цепи ликопина не обозначены атомы водорода и метильные группы, чтобы подчеркнуть различие между этим пигментом и *цис*-конфигурацией проликопина.

каротиноидов, леж-
кие и двойные
длин связаны
существом дво-
существенно раз-
ложеном раз-
обычно углевод-
вые углеводост-
В хлоропласт-
ные и кароти-
маскирует кр-
каротиноидов
рофилла, так
мутантных ф-
ноиды имеют
Пигмента
Преобладаю-
ностью *транс*-
фиг. 25). О-
ликопин в п-
также и др
качественно
Генетиче-
чий обуслов-
дов связан-
396, 397]:

На та-
кища [3-
ция меж-
плоды (и
тогда ка-
жат наи-
промеж-
Так-
новить
Rt=
r геном

тиноидов лежит углеродная цепь, в которой чередуются одинарные и двойные связи (фиг. 25). Различия между разными каротиноидами связаны с наличием *цис*- и *транс*-изомеров, наличием или отсутствием алициклических колец на концах цепей, числом и расположением двойных связей и степенью окисленности. Каротиноиды обычно разделяют на две группы: каротины — простые полиеновые углеводороды и ксантофиллы — окисленные формы каротинов. В хлоропластах зеленых частей растений присутствуют производные и каротиноидов и хлорофилла, но зеленый цвет хлорофилла маскирует красный или желтый цвет каротиноидов. Однако окраска каротиноидов легко обнаруживается в структурах, лишенных хлорофилла, таких, как плоды томатов и корни моркови, а также в мутантных формах, в которых хлорофилл отсутствует, а каротиноиды имеются.

Пигментация плодов томатов обуславливается каротинами. Преобладающими типами, по-видимому, являются ликопин в полностью *транс*-конфигурации, *цис*-изомер ликопина и β -каротин (см. фиг. 25). Обычные красные помидоры содержат главным образом ликопин в полностью *транс*-конфигурации и β -каротин, но имеются также и другие типы окраски, отличающиеся в количественном и качественном отношении.

Генетический анализ показывает, что наследование этих различий обуславливается по крайней мере тремя генами и окраска плодов связана с двумя из них — R и T — следующим образом [315, 396, 397]:

RRTT	Красный
RrTt	
RrTT	
RRTt	
RRtt	Оранжевый (сорт тангерин)
Rrtt	
rrTT	Желтый
rrTt	
rrtt	Промежуточный между желтым и оранжевым

На табл. 10 представлены некоторые данные Маккини и Дженкинса [397], показывающие количественное и качественное различия между четырьмя фенотипами. Необходимо отметить, что желтые плоды (rT) характеризуются очень низким содержанием каротина, тогда как плоды с красной (RT) и оранжевой (Rt) окраской содержат наибольшее количество каротина. Двойной рецессив содержит промежуточное его количество.

Таким образом, если рассматривать все каротины, можно установить следующее их количественное распределение: $rT < rt < Rt = RT$, которое показывает, что главный эффект от замены гена r геном R — это увеличение общего количества каротина. При ана-

лизе качественных различий выясняется, что *цис*-изомеры встречаются в выявляемых количествах только у растений, гомозиготных по *t*, а именно у растений, имеющих плоды оранжевой и промежуточной окрасок. Совершенно очевидно также, что у них отсутствует ликопин в полностью *транс*-конфигурации, в то время как β -каротин и ζ -каротин присутствуют и представляют собой *транс*-изомеры. Ввиду того что *цис*-изомеры связаны с геном *tt*, Цехмейстер и Вент [722] предположили, что ген *T* специфически определяет стереоизомерическую конфигурацию молекулы каротина. Вышеизложенное, почти несомненно, значительно упрощает истинное положение вещей, но оно является полезным в целях указанных возможных химических изменений, сопровождающих изменения отдельных генов.

Таблица 10
Содержание каротина в четырех линиях помидоров
Lycopersicon esculentum [397, 656]

Тип каротина	$\mu\text{г}$ каротиноидов на 1 г плода			
	RT красный	Rt оран- жевый	rT желтый	rt промежу- точный
Ликопин (полностью <i>транс</i> -конфигурация)	70—130	—	0—0,5	—
<i>Цис</i> -изомеры ликопина	—	40—55*	—	10—15*
β -Каротин (полностью <i>транс</i> -конфигурация)	5—10	3—12	1—3	0,5—1,0
Поли- <i>цис</i> -каротин	—	8—15	—	—
ζ -Каротин (полностью <i>транс</i> -конфигурация)	0—0,1	20—15	—	0,01
Фитофлуен**	3—5	4—7	~ 0,1	0,7—1,0
Общее содержание каротинов	80—150	75—150	3—7	15—20

*Половина или большее количество проликопена, остальное *моно-цис*-изомеры.
**Бесцветный каротин, предполагаемый предшественник окрашенных соединений.

Третий ген, влияющий на окраску плодов у томатов, *B* и его полурецессивный аллель *b* были описаны Линкольном и Портером [377]. Эти исследователи использовали линии помидоров *RRTT*, чтобы показать, что замена локуса *B* оказывает следующее влияние на каротины:

Генотип	β -Каротин, % от всего каротина
<i>RRTTBV</i>	93
<i>RRTTBb</i>	61
<i>RRTTbb</i>	10

Общее количество каротина во всех трех генотипах — *RTBV*, *RTVb* и *RTbb* — одинаково, но содержание ликопина уменьшается

с возрастанием содержания β -каротина. Это свидетельствует либо о том, что β -каротин и ликопин образуются из одного источника, количество которого ограничено, либо что β -каротин естественным путем синтезируется из ликопина — процесс, который потребовал бы замыкания колец (см. фиг. 25).

Еще более ясный количественный эффект изменения количества каротиноидов в растениях в результате замены генов наблюдается при изучении наследования активности витамина А в эндосперме кукурузы. Поскольку эндосперм — триплоидная ткань, возможны четыре различные комбинации гена Y и его аллеля y, оказывающие влияние на образование витамина А [403].

Генотип эндосперма	Активность витамина А
ууу	0,05
Yуу	2,25
YUу	5,00
YUУ	7,50

Одна доза гена Y определяет наличие примерно 2,50 единиц активности витамина А, причем эффект добавления этого гена аддитивен, тогда как ген у оказывает очень слабое влияние или не оказывает его совсем.

ВЕЩЕСТВА, ПРИСУТСТВУЮЩИЕ В ЭНДОСПЕРМЕ КУКУРУЗЫ

Химический состав эндосперма кукурузы привлекает внимание агрономов уже в течение многих лет, так как именно эта ткань определяет в основном питательную ценность зерна кукурузы. Эндосперм кукурузы (см. фиг. 14) имеет ряд преимуществ для химического и генетического анализа. Его легко отделить от тканей зародыша, и поэтому химик может работать с относительно однородной тканью, к которой примешивается лишь тонкий наружный слой перикарпа — ткани материнского спорофита. Эндосперм кукурузы, как и многих других растений, содержит триплоидный набор хромосом, что дает генетику возможность варьировать число генов, влияющих на эндосперм, более широко, чем это возможно в диплоидных тканях, и таким образом более точно определять аддитивное действие генов на фенотип, подобно тому, как это описано у георгины (см. стр. 90).

При помощи определенных скрещиваний можно очень сильно изменять содержание углеводов, белков, жира и витаминов в эндосперме кукурузы.

Например, содержание углеводов в большой степени зависит от действия генов, расположенных в независимых локусах: *dull* с аллелями *Du* и *du* и *sugary-1* с аллелями *Su₁*, *su₁* и *su₁^{ain}* [402]. Кэмерон [87] произвел детальный химический анализ углеводов в эндо-

сперме кукурузы, в котором эти гены присутствовали в разном числе, и обнаружил, что ген su_1^{am} (sugary amylaceous) и Du определяют наличие большого количества растворимых углеводов (как растворимых полисахаридов, так и простых сахаров). Их эффект аддитивен; замена доминантных аллелей соответственными рецессивными аллелями su_1 du приводит к уменьшению количества крахмала и возрастанию содержания растворимых углеводов. Помимо влияния на содержание углеводов, эти члены вызывают также изменение физического состояния зерен и концентрации других химических соединений. Зерна с большим количеством крахмала непрозрачные и гладкие, тогда как содержащие большое количество сахара — прозрачные и сморщенные. В табл. 11 приведены также данные о содержании в зернах различного типа никотиновой кислоты, тиамина и биотина по данным Камерона и Тиса [88]. Необходимо отметить, что содержание этих витаминов, так же как и сахаров, в зернах возрастает с уменьшением числа генов su_1^{am} и Du . Весьма возможно, что гены $dull$ и $sugary$ влияют также и на другие химические соединения, однако для выяснения этого вопроса необходимы дальнейшие химические анализы.

Таблица 11

Различное содержание углеводов и витаминов в эндосперме кукурузы с генами $Dull$ (du) и $Sugary$ (su_1 и su_1^{am}) [87, 88]

Генотип эндосперма	Описание фенотипа	Крахмал, %	Общее содержание сахаров, %*	мг на 1 г сухой ткани		
				никотиновая кислота	тиаминовая кислота	биотин
$su_1^{am} su_1^{am} su_1^{am} DuDuDu$	Крахмалистый, непрозрачный, гладкий	80,7	0,08	21,7	0,18	0,07
$su_1^{am} su_1 su_1 Dududu$	То же	58,6	0,42	29,4	0,37	0,09
$su_1^{am} su_1^{am} su_1^{am} dududu$	Сахаристый, прозрачный и сморщенный	51,5	0,82	44,3	0,42	0,14
$su_1 su_1 su_1 DuDuDu$	То же	32,2	2,63	56,3	0,98	0,13
$su_1 su_1 su_1 dududu$	То же	19,2	2,59	56,7	0,88	0,15

*Сахароза и восстанавливающие сахара.

Корреляция между увеличением содержания растворимых сахаров и витаминов в зерне не имеет прямой химической основы. Тис [643] показал, что алеироновый слой сахаристых зерен, богатый никотиновой кислотой, толще, чем в крахмалистых зернах. Кон-

более содержание триптофана в мутантном и нормальном эндосперме кукурузы

su_1 (sugary-1)	1,3
du_1 (brittle-1)	1,8
..... 2)	2,8
..... 2)	2,6
..... 2)	2,4

*Мутанты su_1 и du_1 и нормальные зрелые зерна кукурузы имеют различную химическую изменчивость в других генах

Из табл. 12 видно влияние доминантными нормальными отношениями для мутантных и на зерно, поскольку в отношении этих мутантных зернами на то, что в данном случае влияло на содержание химический состав их химический состав

Белки и другие вещества

В предыдущих работах сравнительно простых методов определения содержания химических веществ в зернах кукурузы. Другим методом определения содержания химических веществ в зернах кукурузы

центрация никотиновой кислоты в алейроновом слое в обоих генотипах одинакова, и, таким образом, возрастание по крайней мере количества никотиновой кислоты является результатом действия генов *sugary* и *dull* скорее на морфологические особенности зерна, чем непосредственно на его химические свойства.

Было исследовано действие других мутантных генов, влияющих на внешний вид зерен и структуру эндосперма и на содержание трех веществ — триптофана, никотиновой кислоты и индолуксусной кислоты [645].

Таблица 12

Среднее содержание триптофана, никотиновой и индолуксусной кислоты в мутантном и нормальном эндосперме кукурузы (средние отношения мутант/нормальный)* [645]

Мутант	Триптофан		Никотиновая кислота		Индолуксусная кислота	
	на 1 г	на зерно	на 1 г	на зерно	на 1 г	на зерно
<i>su</i> ₁ (<i>sugary</i> -1)	1,33	1,00	2,33	1,70	1,55	1,13
<i>bt</i> ₁ (<i>brittle</i> -1)	1,83	0,85	5,12	2,41	2,58	1,33
<i>bt</i> ₂ (<i>brittle</i> -2)	2,89	2,06	2,03	1,43	2,25	1,56
<i>sh</i> ₂ (<i>shrunk</i> -2)	2,66	1,27	3,48	1,65	2,11	1,06
<i>mn</i> (<i>miniature</i>)	2,43	0,54	1,65	0,36	0,64	0,15

*Мутантные и нормальные зерна взяты из одного початка, чтобы уменьшить генетическую изменчивость в других генных локусах.

Из табл. 12 видно влияние мутантного гена по сравнению с доминантными нормальными для пяти изученных линий, причем данные отношений для мутанта и нормальных линий приведены на грамм и на зерно, поскольку мутантные зерна часто мельче нормальных. В отношении этих трех соединений между нормальными и мутантными зернами наблюдается явное различие. Интересно отметить, что в данном случае, так же как и в предыдущем примере, касающемся содержания углеводов, мутантные гены, оказывающие влияние на морфологические особенности зерен, вызывают также изменения их химического состава.

БЕЛКИ И ДРУГИЕ ВЕЩЕСТВА С АНТИГЕННЫМИ СВОЙСТВАМИ

В предыдущих разделах мы излагали данные о наследовании сравнительно простых химических соединений, качественные различия которых химик может определить при помощи хорошо разработанных методов анализа; то же касается и количественного их содержания. Другие вещества или комплексы веществ также можно определить, но при помощи методов, существенно отличающихся от обычных химических методов анализа. Например, хотя белки и другие сложные молекулы организма нельзя анализировать с по-

мощью обычных химических методов, не нарушая их индивидуальности, но их можно в известной степени дифференцировать при помощи иммунологических реакций и применения электрофореза. Применение методики электрофореза, связанной с измерением скорости движения молекул в электрическом поле, дало интересные и важные результаты, касающиеся наследственных химических различий; некоторые из них описаны на стр. 167. Однако большая часть данных о различиях организмов в белках получена в результате применения для идентификации белков иммунологических методов. Изучение наследования иммунологических различий развилось в важную область генетических исследований главным образом в результате работ Ирвина и его сотрудников, назвавших этот раздел генетики иммуногенетикой.

Метод идентификации белков при помощи иммунологических реакций основан на способности организмов вырабатывать антитела на чуждые вещества, называемые антигенами. Антиген может представлять собой белок (почти все белки являются антигенами), а также полисахарид, липид или даже более простое вещество, связанное с молекулой белка. Очень важной особенностью образования антител, которая делает иммунологию таким важным методом в идентификации биологически значимых сложных соединений, является специфичность антитела, образовавшегося в присутствии данного антигена; данное антитело не будет реагировать ни с одним из других антигенов. Из этого общего правила имеются важные исключения, связанные со степенью родства применяемых антигенов, что будет обсуждаться ниже. Однако общее правило имеет большое значение, если помнить об исключениях.

Если нужно сравнить белки или другие антигенные вещества двух особей одного или различных видов, чтобы выяснить, имеют ли они какие-либо общие свойства, нужно взять какое-нибудь подходящее животное, неродственное изучаемому, например кролика, и ввести ему препарат клеток или сыворотки крови одного из изучаемых организмов. Поскольку введенный материал содержит антигены, чуждые для кролика, он будет реагировать на них выработкой антител. После того как это произойдет (кролик будет тогда «иммунным» к этим антигенам), сыворотку кролика испытывают антигенами другого организма. Если у второго организма имеются какие-либо антигены, идентичные обнаруженным у первого, то кролик будет уже иметь специфичные антитела для этих антигенов и произойдет реакция, которая обычно выражается в преципитации или агглютинации, если антигены связаны с клетками, такими, как например эритроциты. Если заметной реакции не наблюдается, то делается вывод, что эти организмы не имеют общих антигенов. Конечно, следует учитывать возможность того, что неродственный промежуточный организм может оказаться неспособным вырабатывать антитела к некоторым антигенам, однако опыты показали, что почти все вещества в том случае, если они связаны с белковой молекулой и представляют собой «чуждое тело», будут функционировать как

антигены. Это касается также и веществ, синтезированных в лаборатории и не встречающихся в природе.

Необходимо подчеркнуть, что антигенные различия еще не всегда говорят о различиях в белках. Сывороточные антигены, по всей вероятности, представляют собой белки, но клеточные антигены, возможно, имеют и не белковую природу, причем белковая часть функционирует здесь как носитель веществ с антигенными свойствами. Не всегда удается установить, связана ли специфичность с белком, небелковой частью или же с комбинированным соединением, так что можно лишь сказать, что имеются различия в иммунологической специфичности. Однако такое утверждение не будет лишь словами, скрывающими наше невежество, так как в настоящее время изучение антигенов и антител достигло такого уровня, когда можно утверждать, что иммунологические различия представляют собой значительные и важные различия в химической структуре клеток и тканей на макромолекулярном уровне [658, 682]; они говорят о химических различиях сложного типа, которые в настоящее время можно лишь приблизительно охарактеризовать как различия в складках, образующихся на длинных цепях, типах поверхностей и т. д., однако, вероятно, очень важных для различий, проявляющихся на более высоких ступенях организации.

Антигенные различия исследовались у большого числа форм растений и животных от примитивных одноклеточных организмов до наиболее высокоорганизованных видов. Первое обобщение, которое было сделано на основе этих исследований, говорит о том, что многие антигены видоспецифичны. Затем было обнаружено, что у разных видов имеются некоторые сходные антигены, причем чем ближе родство между видами, установленное на основе их морфологического сходства, тем больше у них общих антигенов. Первое внутривидовое различие в антигенах было открыто Ландштейнером [341, 342], когда он обнаружил у человека в настоящее время всем хорошо известные группы крови: А, В, АВ и О. Особи, обозначаемые А, имеют антиген А, имеющие антиген В — обозначаются В, а имеющие оба антигена — АВ. Часть людского населения не имеет ни того ни другого антигена и их обозначают О. Это клеточные антигены, расположенные на поверхности эритроцитов. Генетический анализ показал, что в наследовании антигенов участвует серия аллеломорфных генов [688], состоящая по крайней мере из трех членов. Аллели I^A и I^B определяют соответственно наличие антигенов А и В, а третий аллель I^O неспособен вызвать образования ни одного из этих антигенов. Оба аллеля I^A и I^B доминируют над I^O , так что особи $I^A I^O$ и $I^B I^O$ фенотипически не отличимы от $I^A I^A$ и $I^B I^B$. Особи, гетерозиготные по I^A и I^B , имеют группу крови АВ; таким образом, можно сказать, что гены I^A и I^B функционируют независимо друг от друга и ни один из них не доминирует над другим. Группа крови О связана лишь с генотипом $I^O I^O$. Были описаны разные подгруппы, каждая из которых оказалась связанной с наличием аллеля, принадлежащего к этой серии [688].

В ранее проведенных исследованиях по наследованию антигенных различий указывалось, что каждый выявляемый антиген, вырабатываемый в организме, наследуется как признак, определяемый одним геном.

Во всех случаях было обнаружено, что для образования антигена необходимо наличие лишь одного гена, определяющего развитие данного признака, так же как в приведенном выше примере наследования групп крови. Далее было выяснено, что антигенные различия внутри вида можно разделить на определяемые аллеломорфными и неаллеломорфными генами. Например, если организм образует 10 выявляемых антигенов, то наследование их может быть связано лишь с двумя идентифицируемыми локусами. Так, 6 антигенов могут образовываться под влиянием серии аллеломорфных генов A^1, A^2, \dots, A^6 , а выработка остальных четырех может определяться независимо расщепляющейся группой аллелей $B^1 \dots B^4$. Это значит, что может возникать значительное число комбинаций, но в каждой особи вида могут быть лишь по два члена каждой группы. Однако в настоящее время твердо установлено, что картина наследования более сложна, чем казалось вначале, так как ряд антигенов наследуется в виде наборов, как например $A_1 A_2 A_3$ или $A_2 A_3 A_5$, каждый из которых представляет собой генетическую единицу, не разделяемую перекрестом. Поэтому либо должно быть видоизменено ранее сделанное обобщение о том, что каждый антиген определяется одним геном, либо приходится допустить, что образование каждого антигена внутри набора зависит от одного гена, тесно сцепленного с другими генами, определяющими развитие антигенов того же набора.

При изучении наследования антигенных различий эритроцитов у рогатого скота [617], кур [76], уток [395] и человека [499, 689] был обнаружен вышеописанный тип «сцепления». Иллюстрацией может служить наследование антигенов у коров. У этого вида имеется по крайней мере 40 различных антигенных факторов, связанных с эритроцитами голштейно-фризской и гернзейской породы [467]. Результаты скрещиваний ясно показали, что из 38 известных факторов 21 наследуется вместе в «системе В», а 7—в «системе С» [617]. Остальные 9 не относятся к системам В и С, и наследование их требует дальнейшего генетического анализа. Было выявлено 80 разных наследственных комбинаций 21 антигенного фактора группы В и 22 комбинации было обнаружено в группе С.

На фиг. 26 сведены некоторые из полученных данных и приводится ряд дополнительных объяснений. На этой схеме каждый антигенный фактор или группа факторов, наследуемых как генетическая единица, обозначены как группа крови или антиген, согласно терминологии Стормонта, Оуена и Ирвина [617], применяющих термин антиген к любой группе серологических компонентов или антигенов, наследуемых как генетическая единица. Таким образом, группа крови или антиген представляет собой комплекс факторов, некоторые из которых могут быть общими с другими антигенами.

... B² B³ B⁴ B⁵ B⁶ B⁷ B⁸ B⁹ B¹⁰ B¹¹ B¹² B¹³ B¹⁴ B¹⁵ B¹⁶ B¹⁷ B¹⁸ B¹⁹ B²⁰ B²¹ B²² B²³ B²⁴ B²⁵ B²⁶ B²⁷ B²⁸ B²⁹ B³⁰ B³¹ B³² B³³ B³⁴ B³⁵ B³⁶ B³⁷ B³⁸ B³⁹ B⁴⁰ B⁴¹ B⁴² B⁴³ B⁴⁴ B⁴⁵ B⁴⁶ B⁴⁷ B⁴⁸ B⁴⁹ B⁵⁰ B⁵¹ B⁵² B⁵³ B⁵⁴ B⁵⁵ B⁵⁶ B⁵⁷ B⁵⁸ B⁵⁹ B⁶⁰ B⁶¹ B⁶² B⁶³ B⁶⁴ B⁶⁵ B⁶⁶ B⁶⁷ B⁶⁸ B⁶⁹ B⁷⁰ B⁷¹ B⁷² B⁷³ B⁷⁴ B⁷⁵ B⁷⁶ B⁷⁷ B⁷⁸ B⁷⁹ B⁸⁰ B⁸¹ B⁸² B⁸³ B⁸⁴ B⁸⁵ B⁸⁶ B⁸⁷ B⁸⁸ B⁸⁹ B⁹⁰ B⁹¹ B⁹² B⁹³ B⁹⁴ B⁹⁵ B⁹⁶ B⁹⁷ B⁹⁸ B⁹⁹ B¹⁰⁰ B¹⁰¹ B¹⁰² B¹⁰³ B¹⁰⁴ B¹⁰⁵ B¹⁰⁶ B¹⁰⁷ B¹⁰⁸ B¹⁰⁹ B¹¹⁰ B¹¹¹ B¹¹² B¹¹³ B¹¹⁴ B¹¹⁵ B¹¹⁶ B¹¹⁷ B¹¹⁸ B¹¹⁹ B¹²⁰ B¹²¹ B¹²² B¹²³ B¹²⁴ B¹²⁵ B¹²⁶ B¹²⁷ B¹²⁸ B¹²⁹ B¹³⁰ B¹³¹ B¹³² B¹³³ B¹³⁴ B¹³⁵ B¹³⁶ B¹³⁷ B¹³⁸ B¹³⁹ B¹⁴⁰ B¹⁴¹ B¹⁴² B¹⁴³ B¹⁴⁴ B¹⁴⁵ B¹⁴⁶ B¹⁴⁷ B¹⁴⁸ B¹⁴⁹ B¹⁵⁰ B¹⁵¹ B¹⁵² B¹⁵³ B¹⁵⁴ B¹⁵⁵ B¹⁵⁶ B¹⁵⁷ B¹⁵⁸ B¹⁵⁹ B¹⁶⁰ B¹⁶¹ B¹⁶² B¹⁶³ B¹⁶⁴ B¹⁶⁵ B¹⁶⁶ B¹⁶⁷ B¹⁶⁸ B¹⁶⁹ B¹⁷⁰ B¹⁷¹ B¹⁷² B¹⁷³ B¹⁷⁴ B¹⁷⁵ B¹⁷⁶ B¹⁷⁷ B¹⁷⁸ B¹⁷⁹ B¹⁸⁰ B¹⁸¹ B¹⁸² B¹⁸³ B¹⁸⁴ B¹⁸⁵ B¹⁸⁶ B¹⁸⁷ B¹⁸⁸ B¹⁸⁹ B¹⁹⁰ B¹⁹¹ B¹⁹² B¹⁹³ B¹⁹⁴ B¹⁹⁵ B¹⁹⁶ B¹⁹⁷ B¹⁹⁸ B¹⁹⁹ B²⁰⁰ B²⁰¹ B²⁰² B²⁰³ B²⁰⁴ B²⁰⁵ B²⁰⁶ B²⁰⁷ B²⁰⁸ B²⁰⁹ B²¹⁰ B²¹¹ B²¹² B²¹³ B²¹⁴ B²¹⁵ B²¹⁶ B²¹⁷ B²¹⁸ B²¹⁹ B²²⁰ B²²¹ B²²² B²²³ B²²⁴ B²²⁵ B²²⁶ B²²⁷ B²²⁸ B²²⁹ B²³⁰ B²³¹ B²³² B²³³ B²³⁴ B²³⁵ B²³⁶ B²³⁷ B²³⁸ B²³⁹ B²⁴⁰ B²⁴¹ B²⁴² B²⁴³ B²⁴⁴ B²⁴⁵ B²⁴⁶ B²⁴⁷ B²⁴⁸ B²⁴⁹ B²⁵⁰ B²⁵¹ B²⁵² B²⁵³ B²⁵⁴ B²⁵⁵ B²⁵⁶ B²⁵⁷ B²⁵⁸ B²⁵⁹ B²⁶⁰ B²⁶¹ B²⁶² B²⁶³ B²⁶⁴ B²⁶⁵ B²⁶⁶ B²⁶⁷ B²⁶⁸ B²⁶⁹ B²⁷⁰ B²⁷¹ B²⁷² B²⁷³ B²⁷⁴ B²⁷⁵ B²⁷⁶ B²⁷⁷ B²⁷⁸ B²⁷⁹ B²⁸⁰ B²⁸¹ B²⁸² B²⁸³ B²⁸⁴ B²⁸⁵ B²⁸⁶ B²⁸⁷ B²⁸⁸ B²⁸⁹ B²⁹⁰ B²⁹¹ B²⁹² B²⁹³ B²⁹⁴ B²⁹⁵ B²⁹⁶ B²⁹⁷ B²⁹⁸ B²⁹⁹ B³⁰⁰ B³⁰¹ B³⁰² B³⁰³ B³⁰⁴ B³⁰⁵ B³⁰⁶ B³⁰⁷ B³⁰⁸ B³⁰⁹ B³¹⁰ B³¹¹ B³¹² B³¹³ B³¹⁴ B³¹⁵ B³¹⁶ B³¹⁷ B³¹⁸ B³¹⁹ B³²⁰ B³²¹ B³²² B³²³ B³²⁴ B³²⁵ B³²⁶ B³²⁷ B³²⁸ B³²⁹ B³³⁰ B³³¹ B³³² B³³³ B³³⁴ B³³⁵ B³³⁶ B³³⁷ B³³⁸ B³³⁹ B³⁴⁰ B³⁴¹ B³⁴² B³⁴³ B³⁴⁴ B³⁴⁵ B³⁴⁶ B³⁴⁷ B³⁴⁸ B³⁴⁹ B³⁵⁰ B³⁵¹ B³⁵² B³⁵³ B³⁵⁴ B³⁵⁵ B³⁵⁶ B³⁵⁷ B³⁵⁸ B³⁵⁹ B³⁶⁰ B³⁶¹ B³⁶² B³⁶³ B³⁶⁴ B³⁶⁵ B³⁶⁶ B³⁶⁷ B³⁶⁸ B³⁶⁹ B³⁷⁰ B³⁷¹ B³⁷² B³⁷³ B³⁷⁴ B³⁷⁵ B³⁷⁶ B³⁷⁷ B³⁷⁸ B³⁷⁹ B³⁸⁰ B³⁸¹ B³⁸² B³⁸³ B³⁸⁴ B³⁸⁵ B³⁸⁶ B³⁸⁷ B³⁸⁸ B³⁸⁹ B³⁹⁰ B³⁹¹ B³⁹² B³⁹³ B³⁹⁴ B³⁹⁵ B³⁹⁶ B³⁹⁷ B³⁹⁸ B³⁹⁹ B⁴⁰⁰ B⁴⁰¹ B⁴⁰² B⁴⁰³ B⁴⁰⁴ B⁴⁰⁵ B⁴⁰⁶ B⁴⁰⁷ B⁴⁰⁸ B⁴⁰⁹ B⁴¹⁰ B⁴¹¹ B⁴¹² B⁴¹³ B⁴¹⁴ B⁴¹⁵ B⁴¹⁶ B⁴¹⁷ B⁴¹⁸ B⁴¹⁹ B⁴²⁰ B⁴²¹ B⁴²² B⁴²³ B⁴²⁴ B⁴²⁵ B⁴²⁶ B⁴²⁷ B⁴²⁸ B⁴²⁹ B⁴³⁰ B⁴³¹ B⁴³² B⁴³³ B⁴³⁴ B⁴³⁵ B⁴³⁶ B⁴³⁷ B⁴³⁸ B⁴³⁹ B⁴⁴⁰ B⁴⁴¹ B⁴⁴² B⁴⁴³ B⁴⁴⁴ B⁴⁴⁵ B⁴⁴⁶ B⁴⁴⁷ B⁴⁴⁸ B⁴⁴⁹ B⁴⁵⁰ B⁴⁵¹ B⁴⁵² B⁴⁵³ B⁴⁵⁴ B⁴⁵⁵ B⁴⁵⁶ B⁴⁵⁷ B⁴⁵⁸ B⁴⁵⁹ B⁴⁶⁰ B⁴⁶¹ B⁴⁶² B⁴⁶³ B⁴⁶⁴ B⁴⁶⁵ B⁴⁶⁶ B⁴⁶⁷ B⁴⁶⁸ B⁴⁶⁹ B⁴⁷⁰ B⁴⁷¹ B⁴⁷² B⁴⁷³ B⁴⁷⁴ B⁴⁷⁵ B⁴⁷⁶ B⁴⁷⁷ B⁴⁷⁸ B⁴⁷⁹ B⁴⁸⁰ B⁴⁸¹ B⁴⁸² B⁴⁸³ B⁴⁸⁴ B⁴⁸⁵ B⁴⁸⁶ B⁴⁸⁷ B⁴⁸⁸ B⁴⁸⁹ B⁴⁹⁰ B⁴⁹¹ B⁴⁹² B⁴⁹³ B⁴⁹⁴ B⁴⁹⁵ B⁴⁹⁶ B⁴⁹⁷ B⁴⁹⁸ B⁴⁹⁹ B⁵⁰⁰ B⁵⁰¹ B⁵⁰² B⁵⁰³ B⁵⁰⁴ B⁵⁰⁵ B⁵⁰⁶ B⁵⁰⁷ B⁵⁰⁸ B⁵⁰⁹ B⁵¹⁰ B⁵¹¹ B⁵¹² B⁵¹³ B⁵¹⁴ B⁵¹⁵ B⁵¹⁶ B⁵¹⁷ B⁵¹⁸ B⁵¹⁹ B⁵²⁰ B⁵²¹ B⁵²² B⁵²³ B⁵²⁴ B⁵²⁵ B⁵²⁶ B⁵²⁷ B⁵²⁸ B⁵²⁹ B⁵³⁰ B⁵³¹ B⁵³² B⁵³³ B⁵³⁴ B⁵³⁵ B⁵³⁶ B⁵³⁷ B⁵³⁸ B⁵³⁹ B⁵⁴⁰ B⁵⁴¹ B⁵⁴² B⁵⁴³ B⁵⁴⁴ B⁵⁴⁵ B⁵⁴⁶ B⁵⁴⁷ B⁵⁴⁸ B⁵⁴⁹ B⁵⁵⁰ B⁵⁵¹ B⁵⁵² B⁵⁵³ B⁵⁵⁴ B⁵⁵⁵ B⁵⁵⁶ B⁵⁵⁷ B⁵⁵⁸ B⁵⁵⁹ B⁵⁶⁰ B⁵⁶¹ B⁵⁶² B⁵⁶³ B⁵⁶⁴ B⁵⁶⁵ B⁵⁶⁶ B⁵⁶⁷ B⁵⁶⁸ B⁵⁶⁹ B⁵⁷⁰ B⁵⁷¹ B⁵⁷² B⁵⁷³ B⁵⁷⁴ B⁵⁷⁵ B⁵⁷⁶ B⁵⁷⁷ B⁵⁷⁸ B⁵⁷⁹ B⁵⁸⁰ B⁵⁸¹ B⁵⁸² B⁵⁸³ B⁵⁸⁴ B⁵⁸⁵ B⁵⁸⁶ B⁵⁸⁷ B⁵⁸⁸ B⁵⁸⁹ B⁵⁹⁰ B⁵⁹¹ B⁵⁹² B⁵⁹³ B⁵⁹⁴ B⁵⁹⁵ B⁵⁹⁶ B⁵⁹⁷ B⁵⁹⁸ B⁵⁹⁹ B⁶⁰⁰ B⁶⁰¹ B⁶⁰² B⁶⁰³ B⁶⁰⁴ B⁶⁰⁵ B⁶⁰⁶ B⁶⁰⁷ B⁶⁰⁸ B⁶⁰⁹ B⁶¹⁰ B⁶¹¹ B⁶¹² B⁶¹³ B⁶¹⁴ B⁶¹⁵ B⁶¹⁶ B⁶¹⁷ B⁶¹⁸ B⁶¹⁹ B⁶²⁰ B⁶²¹ B⁶²² B⁶²³ B⁶²⁴ B⁶²⁵ B⁶²⁶ B⁶²⁷ B⁶²⁸ B⁶²⁹ B⁶³⁰ B⁶³¹ B⁶³² B⁶³³ B⁶³⁴ B⁶³⁵ B⁶³⁶ B⁶³⁷ B⁶³⁸ B⁶³⁹ B⁶⁴⁰ B⁶⁴¹ B⁶⁴² B⁶⁴³ B⁶⁴⁴ B⁶⁴⁵ B⁶⁴⁶ B⁶⁴⁷ B⁶⁴⁸ B⁶⁴⁹ B⁶⁵⁰ B⁶⁵¹ B⁶⁵² B⁶⁵³ B⁶⁵⁴ B⁶⁵⁵ B⁶⁵⁶ B⁶⁵⁷ B⁶⁵⁸ B⁶⁵⁹ B⁶⁶⁰ B⁶⁶¹ B⁶⁶² B⁶⁶³ B⁶⁶⁴ B⁶⁶⁵ B⁶⁶⁶ B⁶⁶⁷ B⁶⁶⁸ B⁶⁶⁹ B⁶⁷⁰ B⁶⁷¹ B⁶⁷² B⁶⁷³ B⁶⁷⁴ B⁶⁷⁵ B⁶⁷⁶ B⁶⁷⁷ B⁶⁷⁸ B⁶⁷⁹ B⁶⁸⁰ B⁶⁸¹ B⁶⁸² B⁶⁸³ B⁶⁸⁴ B⁶⁸⁵ B⁶⁸⁶ B⁶⁸⁷ B⁶⁸⁸ B⁶⁸⁹ B⁶⁹⁰ B⁶⁹¹ B⁶⁹² B⁶⁹³ B⁶⁹⁴ B⁶⁹⁵ B⁶⁹⁶ B⁶⁹⁷ B⁶⁹⁸ B⁶⁹⁹ B⁷⁰⁰ B⁷⁰¹ B⁷⁰² B⁷⁰³ B⁷⁰⁴ B⁷⁰⁵ B⁷⁰⁶ B⁷⁰⁷ B⁷⁰⁸ B⁷⁰⁹ B⁷¹⁰ B⁷¹¹ B⁷¹² B⁷¹³ B⁷¹⁴ B⁷¹⁵ B⁷¹⁶ B⁷¹⁷ B⁷¹⁸ B⁷¹⁹ B⁷²⁰ B⁷²¹ B⁷²² B⁷²³ B⁷²⁴ B⁷²⁵ B⁷²⁶ B⁷²⁷ B⁷²⁸ B⁷²⁹ B⁷³⁰ B⁷³¹ B⁷³² B⁷³³ B⁷³⁴ B⁷³⁵ B⁷³⁶ B⁷³⁷ B⁷³⁸ B⁷³⁹ B⁷⁴⁰ B⁷⁴¹ B⁷⁴² B⁷⁴³ B⁷⁴⁴ B⁷⁴⁵ B⁷⁴⁶ B⁷⁴⁷ B⁷⁴⁸ B⁷⁴⁹ B⁷⁵⁰ B⁷⁵¹ B⁷⁵² B⁷⁵³ B⁷⁵⁴ B⁷⁵⁵ B⁷⁵⁶ B⁷⁵⁷ B⁷⁵⁸ B⁷⁵⁹ B⁷⁶⁰ B⁷⁶¹ B⁷⁶² B⁷⁶³ B⁷⁶⁴ B⁷⁶⁵ B⁷⁶⁶ B⁷⁶⁷ B⁷⁶⁸ B⁷⁶⁹ B⁷⁷⁰ B⁷⁷¹ B⁷⁷² B⁷⁷³ B⁷⁷⁴ B⁷⁷⁵ B⁷⁷⁶ B⁷⁷⁷ B⁷⁷⁸ B⁷⁷⁹ B⁷⁸⁰ B⁷⁸¹ B⁷⁸² B⁷⁸³ B⁷⁸⁴ B⁷⁸⁵ B⁷⁸⁶ B⁷⁸⁷ B⁷⁸⁸ B⁷⁸⁹ B⁷⁹⁰ B⁷⁹¹ B⁷⁹² B⁷⁹³ B⁷⁹⁴ B⁷⁹⁵ B⁷⁹⁶ B⁷⁹⁷ B⁷⁹⁸ B⁷⁹⁹ B⁸⁰⁰ B⁸⁰¹ B⁸⁰² B⁸⁰³ B⁸⁰⁴ B⁸⁰⁵ B⁸⁰⁶ B⁸⁰⁷ B⁸⁰⁸ B⁸⁰⁹ B⁸¹⁰ B⁸¹¹ B⁸¹² B⁸¹³ B⁸¹⁴ B⁸¹⁵ B⁸¹⁶ B⁸¹⁷ B⁸¹⁸ B⁸¹⁹ B⁸²⁰ B⁸²¹ B⁸²² B⁸²³ B⁸²⁴ B⁸²⁵ B⁸²⁶ B⁸²⁷ B⁸²⁸ B⁸²⁹ B⁸³⁰ B⁸³¹ B⁸³² B⁸³³ B⁸³⁴ B⁸³⁵ B⁸³⁶ B⁸³⁷ B⁸³⁸ B⁸³⁹ B⁸⁴⁰ B⁸⁴¹ B⁸⁴² B⁸⁴³ B⁸⁴⁴ B⁸⁴⁵ B⁸⁴⁶ B⁸⁴⁷ B⁸⁴⁸ B⁸⁴⁹ B⁸⁵⁰ B⁸⁵¹ B⁸⁵² B⁸⁵³ B⁸⁵⁴ B⁸⁵⁵ B⁸⁵⁶ B⁸⁵⁷ B⁸⁵⁸ B⁸⁵⁹ B⁸⁶⁰ B⁸⁶¹ B⁸⁶² B⁸⁶³ B⁸⁶⁴ B⁸⁶⁵ B⁸⁶⁶ B⁸⁶⁷ B⁸⁶⁸ B⁸⁶⁹ B⁸⁷⁰ B⁸⁷¹ B⁸⁷² B⁸⁷³ B⁸⁷⁴ B⁸⁷⁵ B⁸⁷⁶ B⁸⁷⁷ B⁸⁷⁸ B⁸⁷⁹ B⁸⁸⁰ B⁸⁸¹ B⁸⁸² B⁸⁸³ B⁸⁸⁴ B⁸⁸⁵ B⁸⁸⁶ B⁸⁸⁷ B⁸⁸⁸ B⁸⁸⁹ B⁸⁹⁰ B⁸⁹¹ B⁸⁹² B⁸⁹³ B⁸⁹⁴ B⁸⁹⁵ B⁸⁹⁶ B⁸⁹⁷ B⁸⁹⁸ B⁸⁹⁹ B⁹⁰⁰ B⁹⁰¹ B⁹⁰² B⁹⁰³ B⁹⁰⁴ B⁹⁰⁵ B⁹⁰⁶ B⁹⁰⁷ B⁹⁰⁸ B⁹⁰⁹ B⁹¹⁰ B⁹¹¹ B⁹¹² B⁹¹³ B⁹¹⁴ B⁹¹⁵ B⁹¹⁶ B⁹¹⁷ B⁹¹⁸ B⁹¹⁹ B⁹²⁰ B⁹²¹ B⁹²² B⁹²³ B⁹²⁴ B⁹²⁵ B⁹²⁶ B⁹²⁷ B⁹²⁸ B⁹²⁹ B⁹³⁰ B⁹³¹ B⁹³² B⁹³³ B⁹³⁴ B⁹³⁵ B⁹³⁶ B⁹³⁷ B⁹³⁸ B⁹³⁹ B⁹⁴⁰ B⁹⁴¹ B⁹⁴² B⁹⁴³ B⁹⁴⁴ B⁹⁴⁵ B⁹⁴⁶ B⁹⁴⁷ B⁹⁴⁸ B⁹⁴⁹ B⁹⁵⁰ B⁹⁵¹ B⁹⁵² B⁹⁵³ B⁹⁵⁴ B⁹⁵⁵ B⁹⁵⁶ B⁹⁵⁷ B⁹⁵⁸ B⁹⁵⁹ B⁹⁶⁰ B⁹⁶¹ B⁹⁶² B⁹⁶³ B⁹⁶⁴ B⁹⁶⁵ B⁹⁶⁶ B⁹⁶⁷ B⁹⁶⁸ B⁹⁶⁹ B⁹⁷⁰ B⁹⁷¹ B⁹⁷² B⁹⁷³ B⁹⁷⁴ B⁹⁷⁵ B⁹⁷⁶ B⁹⁷⁷ B⁹⁷⁸ B⁹⁷⁹ B⁹⁸⁰ B⁹⁸¹ B⁹⁸² B⁹⁸³ B⁹⁸⁴ B⁹⁸⁵ B⁹⁸⁶ B⁹⁸⁷ B⁹⁸⁸ B⁹⁸⁹ B⁹⁹⁰ B⁹⁹¹ B⁹⁹² B⁹⁹³ B⁹⁹⁴ B⁹⁹⁵ B⁹⁹⁶ B⁹⁹⁷ B⁹⁹⁸ B⁹⁹⁹ B¹⁰⁰⁰ B¹⁰⁰¹ B¹⁰⁰² B¹⁰⁰³ B¹⁰⁰⁴ B¹⁰⁰⁵ B¹⁰⁰⁶ B¹⁰⁰⁷ B¹⁰⁰⁸ B¹⁰⁰⁹ B¹⁰¹⁰ B¹⁰¹¹ B¹⁰¹² B¹⁰¹³ B¹⁰¹⁴ B¹⁰¹⁵ B¹⁰¹⁶ B¹⁰¹⁷ B¹⁰¹⁸ B¹⁰¹⁹ B¹⁰²⁰ B¹⁰²¹ B¹⁰²² B¹⁰²³ B¹⁰²⁴ B¹⁰²⁵ B¹⁰²⁶ B¹⁰²⁷ B¹⁰²⁸ B¹⁰²⁹ B¹⁰³⁰ B¹⁰³¹ B¹⁰³² B¹⁰³³ B¹⁰³⁴ B¹⁰³⁵ B¹⁰³⁶ B¹⁰³⁷ B¹⁰³⁸ B¹⁰³⁹ B¹⁰⁴⁰ B¹⁰⁴¹ B¹⁰⁴² B¹⁰⁴³ B¹⁰⁴⁴ B¹⁰⁴⁵ B¹⁰⁴⁶ B¹⁰⁴⁷ B¹⁰⁴⁸ B¹⁰⁴⁹ B¹⁰⁵⁰ B¹⁰⁵¹ B¹⁰⁵² B¹⁰⁵³ B¹⁰⁵⁴ B¹⁰⁵⁵ B¹⁰⁵⁶ B¹⁰⁵⁷ B¹⁰⁵⁸ B¹⁰⁵⁹ B¹⁰⁶⁰ B¹⁰⁶¹ B¹⁰⁶² B¹⁰⁶³ B¹⁰⁶⁴ B¹⁰⁶⁵ B¹⁰⁶⁶ B¹⁰⁶⁷ B¹⁰⁶⁸ B¹⁰⁶⁹ B¹⁰⁷⁰ B¹⁰⁷¹ B¹⁰⁷² B¹⁰⁷³ B¹⁰⁷⁴ B¹⁰⁷⁵ B¹⁰⁷⁶ B¹⁰⁷⁷ B¹⁰⁷⁸ B¹⁰⁷⁹ B¹⁰⁸⁰ B¹⁰⁸¹ B¹⁰⁸² B¹⁰⁸³ B¹⁰⁸⁴ B¹⁰⁸⁵ B¹⁰⁸⁶ B¹⁰⁸⁷ B¹⁰⁸⁸ B¹⁰⁸⁹ B¹⁰⁹⁰ B¹⁰⁹¹ B¹⁰⁹² B¹⁰⁹³ B¹⁰⁹⁴ B¹⁰⁹⁵ B¹⁰⁹⁶ B¹⁰⁹⁷ B¹⁰⁹⁸ B¹⁰⁹⁹ B¹¹⁰⁰ B¹¹⁰¹ B¹¹⁰² B¹¹⁰³ B¹¹⁰⁴ B¹¹⁰⁵ B¹¹⁰⁶ B¹¹⁰⁷ B¹¹⁰⁸ B¹¹⁰⁹ B¹¹¹⁰ B¹¹¹¹ B¹¹¹² B¹¹¹³ B¹¹¹⁴ B¹¹¹⁵ B¹¹¹⁶ B¹¹¹⁷ B¹¹¹⁸ B¹¹¹⁹ B¹¹²⁰ B¹¹²¹ B¹¹²² B¹¹²³ B¹¹²⁴ B¹¹²⁵ B¹¹²⁶ B¹¹²⁷ B¹¹²⁸ B¹¹²⁹ B¹¹³⁰ B¹¹³¹ B¹¹³² B¹¹³³ B

Если образование каждого антигена с его единственным или множественными факторами определяется одним геном, то имеется две серии аллелей: $B^2, B^{3,6,7} \dots$ и т. д. с 80 аллелями и $C^{22,26} \dots$ и т. д. с 22 аллелями. Можно дать другое генетическое объяснение, предположив, что наследование связано с неаллеломорфными генами, каждый из которых определяет развитие одного антигенного фактора, или же что вышеупомянутые антигены образуются под действием нескольких тесно сцепленных локусов. Первое объяснение

Факторы	Группы
40 различных антигенных факторов у коров; каждый из них вызывает определенную серологическую реакцию, т. е. образование специфического антитела, или реагирует с ним	Встречаются в виде групп, состоящих из одного или большего числа факторов, каждая группа наследует как единица
$\left. \begin{array}{l} 1 \\ 2 \\ 3 \\ 4 \\ 5 \\ \vdots \\ 21 \end{array} \right\} \text{Наследуются через В-систему аллеломорфных или тесно сцепленных генов}$	$\rightarrow \text{Известно 80 различных комбинаций} \left\{ \begin{array}{l} B_2 \\ B_{3, 6, 7} \\ B_{8, 10, 13} \\ B_{15} \\ B_{1, 2, 3, 4} \\ \text{и т. д.} \end{array} \right.$
$\left. \begin{array}{l} 22 \\ \vdots \\ 28 \end{array} \right\} \text{Наследуются через С-систему аллеломорфных или тесно сцепленных генов}$	$\rightarrow \text{Известны 22 различные комбинации} \left\{ \begin{array}{l} C_{22} \\ C_{25, 26, 27} \\ \text{и т. д.} \end{array} \right.$
$\left. \begin{array}{l} 29 \\ \vdots \\ 40 \end{array} \right\} \text{Окончательно не проанализированы, но независимы от В и С}$	

Фиг. 26. Закономерности наследования некоторых клеточных антигенов у коров.

требуется, чтобы система В состояла из 21 локуса, которые были бы тесно сцеплены, или из «субгенов», причем каждый из них имел бы два аллеля. Один из аллелей определял бы наличие, а другой отсутствие антигена. Однако имеющиеся в настоящее время данные для коров и других форм показывают, что наилучшее объяснение — это признание наличия серии аллелей, причем каждый аллель серии вызывает развитие антигена, близкородственного антигенам, образующимся под влиянием аллеломорфных ему генов. Можно ожидать, что каждый из родственных антигенов будет стимулировать образование антител, которые в известной степени могут давать перекрестные реакции с некоторыми или со всеми родственными антигенами. Существование такого типа перекрестных реакций доказано целым рядом фактов из разных источников [см. 343]. Если серологические различия, обнаруженные у коров, связаны с перекрестными реакциями,

то приходится лишь предположить, что каждый аллель какого-либо определенного гена вызывает образование антигена с серологической специфичностью, в различной степени перекрывающей антигены, образовавшиеся под влиянием других аллелей. Это допущение удовлетворительно объясняет имеющиеся данные по наследованию антигенов у коров [616, 617], а также может служить приемлемым объяснением подобных случаев у человека, кур и уток.

Хотя основные работы по иммуногенетике касаются главным образом наследования клеточных антигенов, локализованных на поверхности эритроцитов, это не значит, что наследуются лишь различия в клеточных антигенах. Антигены эритроцитов человека обнаружены в слюне и в некоторых тканях, причем они наследуются так же, как и клеточные антигены [688]. Кроме того, изучение антигенов сывороток родственных друг другу видов голубей и их гибридов также показало, что видоспецифичные антигены сыворотки, имеющиеся у родителей, обнаруживаются у гибридов и наследуются так же, как и клеточные антигены [123].

Как и следовало ожидать на основе изучения данных о влиянии числа генов на образование пигмента, которые были изложены в предыдущих разделах, наличие двух генов, определяющих появление определенного антигена, приводит к образованию его в большем количестве по сравнению с гетерозиготами, где присутствует лишь один из этих генов. Подобные количественные различия между гетерозиготами и гомозиготами были обнаружены в большинстве случаев при исследовании групп крови человека, таких, как MNS [344, 536], Rh [399] и Duffy [500], а также при изучении антигенов у парameций (см. стр. 299). Наиболее подходящее объяснение этого явления — конкуренция за общий субстрат, как и в примерах с пигментами растений.

Другой тип различий между гетерозиготами и гомозиготами обнаружен при изучении наследования антигенных различий у голубей [78] и уток [394], где у гибридов, полученных от скрещивания разных видов с различными антигенами, часто образуются «гибридные вещества», дающие антисыворотку, специфичную для антигена, обнаруженного у гибридов, но не специфичную для любой родительской формы. Так, голубь *Columba livia* имеет антиген С, тогда как родственный вид *C. guinea* вырабатывает антиген С'. Образование этих двух антигенов, по-видимому, определяется аллеломорфными генами. Гибрид вырабатывает антиген СС', который отличается как от С, так и от С', что показывают пробы с антисыворотками. Это явление можно объяснить следующим образом: взаимодействие аллелей С и С' в одном геноме приводит к образованию вещества СС', отличающегося как от С, так и от С'. Это лишь один пример среди многих, которые можно объяснить таким образом. Дальнейшие соображения о взаимодействии аллелей изложены в гл. IX.

Имеется очень важный вопрос, на который желательно получить ясный ответ: какова связь между наследственными антигенными

различиями и более чем
различия непосредствен
ными в морфологии
известно, что у генетиче
всегда наблюдаются раз
личия в антиген
изменения структу
дающие результаты
Например, высокая яй
лм специфического а
тот факт, что при
менно куры с опреде
Это может быть от
знаком и антигеном. С
целого комплекса ген
обуславливает общий

Антигенные различия
по окраске глаз были
ной огневки *Ephesia*
возможности сделать
между антигенами и
технически очень т
щуюся от дикого ти
деленная линия отли
этим всегда подразу
известному гену. О
не оказывающих вл
вызывать появления
эффектом мутантно

ОБЩИЕ ВЫ
И
НА

Из вышеизло
могут вызывать о
ческом составе. Од
веществ, которые
зано в гл. III, еще
предшествуют изм
Однако соверш
ческих различий
гом в понимании
развитию вышеука
нения гена, что ле
к развитию данн
На фиг. данн
сах.

различиями и более ясными химическими различиями? Антигенные различия непосредственно не связаны со специфическими различиями в морфологических признаках и обмене, хотя хорошо известно, что у генотипически различных линий любого вида почти всегда наблюдаются различия в антигенах. Делались попытки связать различия в антигенном составе с различиями в генах, вызывающих изменения структуры и химического состава. Получены обнадеживающие результаты, но они не являются окончательными. Например, высокая яйценоскость кур оказалась связанной с наличием специфического антигенного комплекса; в пользу этого говорит тот факт, что при отборе на яйценоскость отбираются одновременно куры с определенными антигенами [561].

Это может быть отражением прямой связи между данным признаком и антигеном. С другой стороны, это можно объяснить отбором целого комплекса генов с разными функциями, действие которых обуславливает общий конечный результат (см. гл. X).

Антигенные различия между особями дикого типа и мутантами по окраске глаз были показаны для *D. melanogaster* [184] и амбарной огневки *Ephesia* [93], однако полученные данные не дают возможности сделать вывод о наличии определенной корреляции между антигенами и морфологическими признаками. Прежде всего технически очень трудно получить мутантную линию, отличающуюся от дикого типа одним геном. Часто утверждают, что определенная линия отличается от другой лишь одним геном, однако под этим всегда подразумевается, что они различаются лишь по одному известному гену. Однако могут быть различия и в других генах, не оказывающих влияния на морфологию фенотипа, которые могут вызывать появление антигенных различий, не связанных с видимым эффектом мутантного гена.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ ОТНОСИТЕЛЬНО ВЛИЯНИЯ МУТАЦИЙ И ЧИСЛА ОПРЕДЕЛЕННЫХ ГЕНОВ НА ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ОРГАНИЗМА

Из вышеизложенного ясно, что изменения отдельных генов могут вызывать определенные и специфические изменения в химическом составе. Однако остается неясным характер процессов обмена веществ, которые приводят к этим изменениям, а также, как указано в гл. III, еще недостаточно известно о природе мутаций, которые предшествуют изменениям обмена веществ и вызывают их.

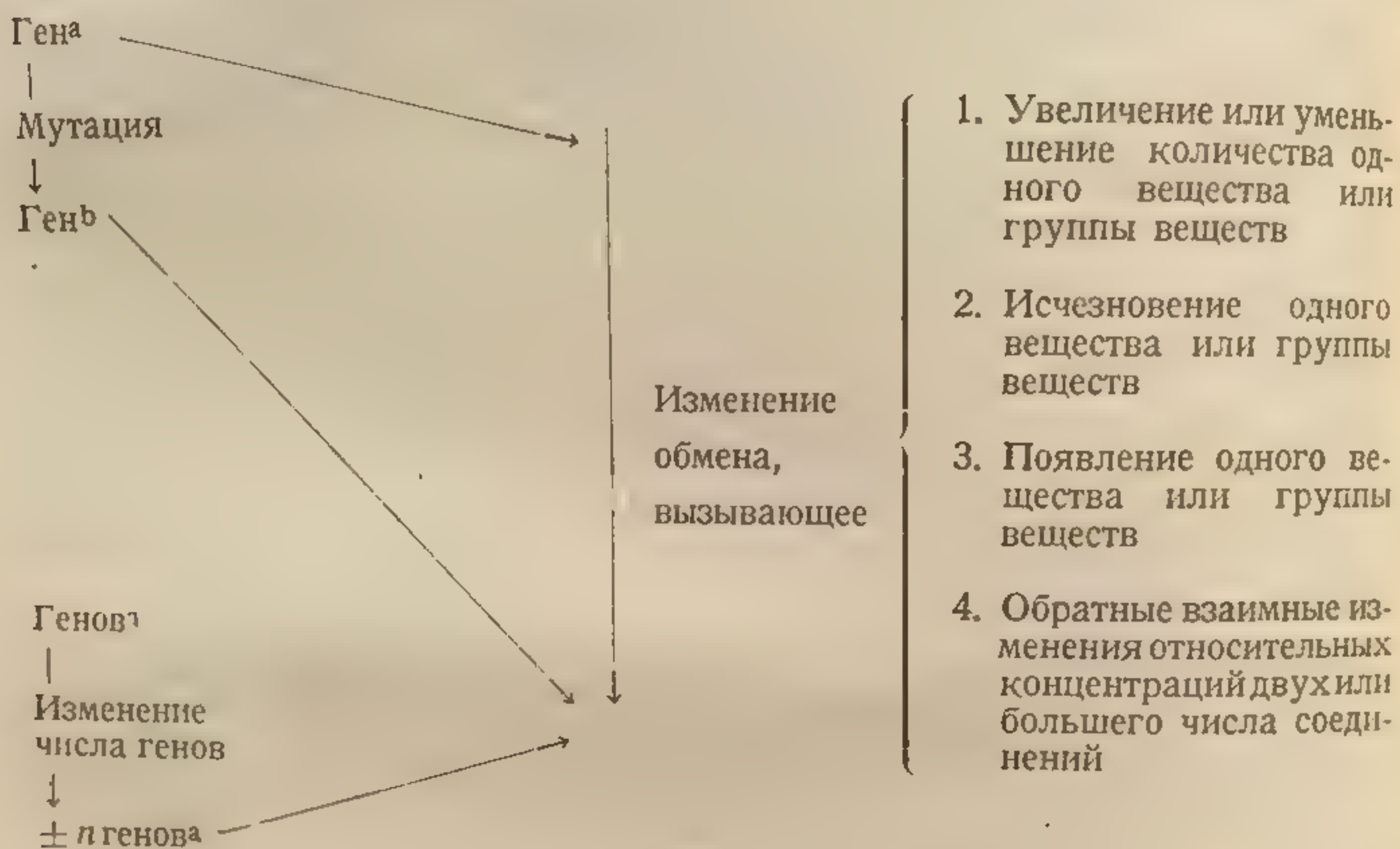
Однако совершенно ясно, что выявление наследственных химических различий и исследование их природы является важным шагом в понимании процессов изменения обмена веществ, ведущих к развитию вышеуказанных различий и, следовательно, природы изменения гена, что лежит в основе всей цепи событий, которые приводят к развитию данного фенотипа.

На фиг. 27 подытожены некоторые данные о химических процессах, наблюдаемых при замене одного аллеломорфного гена другим

или при изменении числа определенных генов. Указанные четыре типа химических изменений не исключают друг друга в любом случае изменения гена, поскольку при помощи имеющихся в настоящее

Генотипическое изменение

Химические последствия



Фиг. 27. Суммарные данные по изучению влияния мутаций генов и изменения их количества на химический состав.

время химических методов не удастся должным образом проанализировать все изменения химической структуры. Более того, удастся учесть лишь очень заметные различия, и необходимо иметь в виду, что всем описанным в данной и последующих главах явным наследственным химическим различиям могут сопутствовать и имеющие большое значение невыявленные изменения.

Глава V

НАСЛЕДОВАНИЕ ПОТРЕБНОСТЕЙ В ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВАХ

Как показывают примеры, приведенные в гл. IV, генетическая конституция организма оказывает решающее влияние на химический состав его частей. Те химические соединения, о которых шла речь, не имеют существенного значения для поддержания жизни организмов, в которых они встречаются, и часто, по-видимому, не имеет особого значения, присутствуют они или нет. Однако генные мутации влияют также на концентрацию тех химических соединений, которые имеют важное значение для жизненных процессов, и если концентрация какого-либо из этих веществ снижается слишком сильно, то мутация дает летальный эффект. В некоторых случаях можно восполнить недостающее важное вещество посредством поглощения его из внешней среды, и тогда организм продолжает жить и расти, причем иногда, по-видимому, совершенно нормально. Изучение подобных линий, у которых потребность в определенных питательных веществах возникла путем мутации, позволяет по-новому подойти к оценке эффектов генетических изменений, хотя в принципе такого типа исследования не отличаются от прямых наблюдений над изменением пигментов цветков. На практике этот метод наиболее успешно применялся для изучения мутантов у микроорганизмов. Он возник в связи с исследованиями Бидля и Татума [31, 32], использовавших в качестве подопытного организма гриб *Neurospora*; с тех пор этот объект применяют очень широко наряду с другими плесневыми грибами, дрожжами и бактериями.

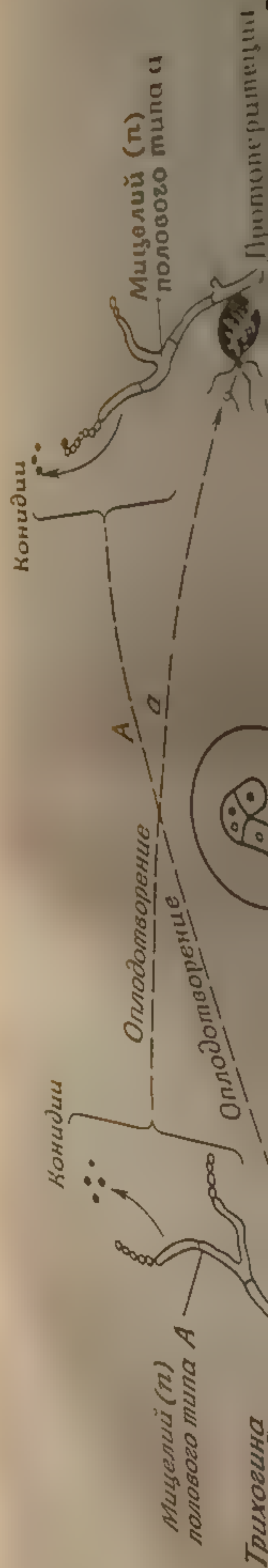
Из материала данной главы, а в еще большей степени гл. VIII ясно, что мутанты с измененным питанием оказались очень ценными для изучения путей биосинтеза метаболитов, необходимых в питании, поскольку различные мутации, по-видимому, блокируют разные химические ступени в широком ряду биохимических реакций, создающих общую картину обмена веществ. Однако необходимо помнить, что эта методика, так же как и другие, имеет ряд характерных недостатков. Мутации, касающиеся необходимых для питания веществ, неспособных проникнуть через клеточную оболочку, элиминируются как летальные. Обычно отбрасывают также мутанты, которые характеризуются частичными изменениями потребности в питательных веществах, поскольку они неудобны для многих целей эксперимента. Для работы удобно использовать орга-

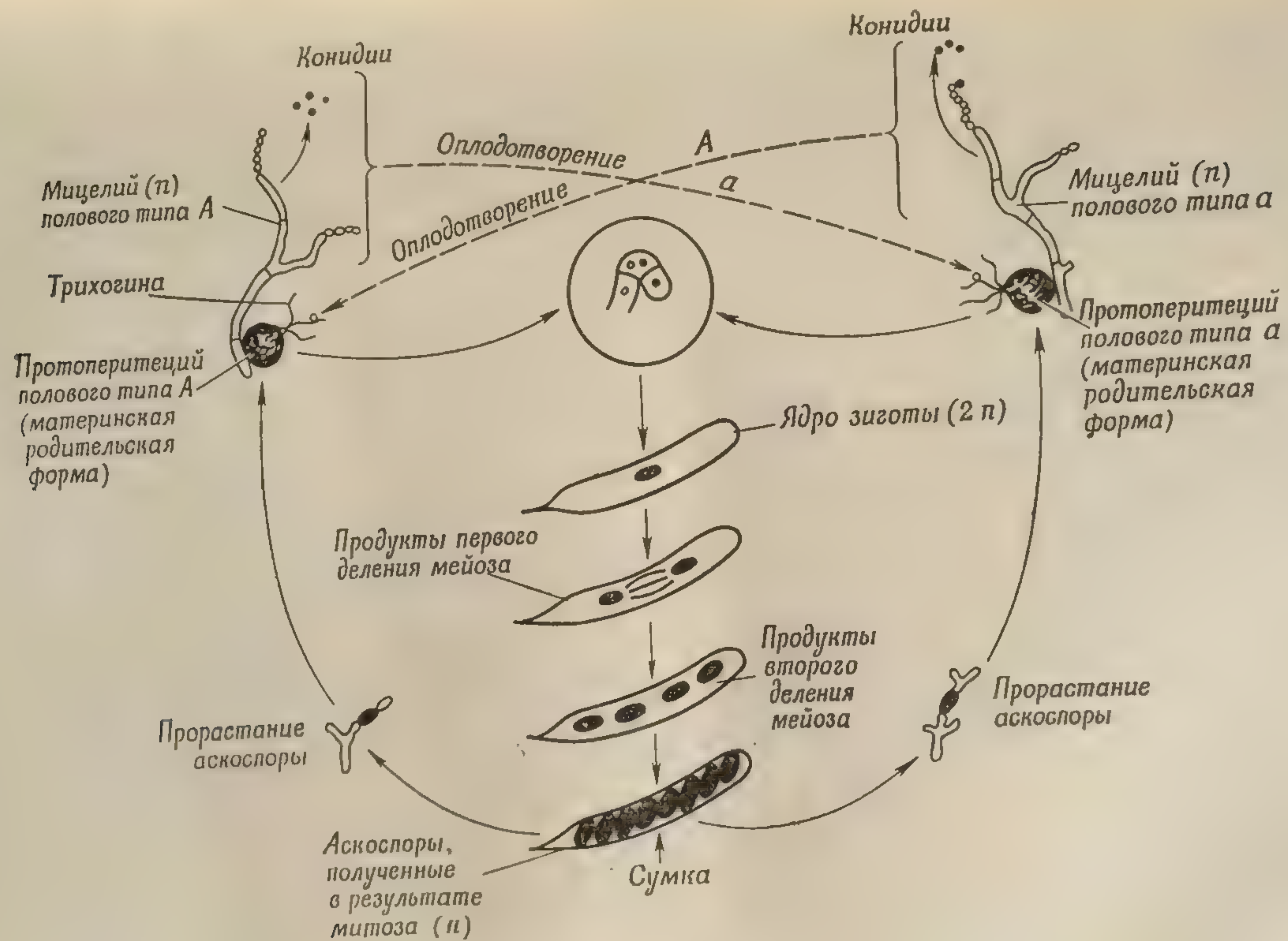
низмы, нуждающиеся для роста в простых веществах, так как они способны к более разнообразным формам биосинтеза. Нейроспора, например, растет на среде, содержащей минеральные соли, сахар (в качестве источника углерода и энергии) и один из витаминов В — биотин. В процессе роста она синтезирует все разнообразные аминокислоты, витамины, компоненты нуклеиновых кислот, полисахариды, липиды и другие вещества, содержащиеся в ее протоплазме. Как будет видно из дальнейшего, многие процессы биосинтеза, в ходе которых образуются важные метаболиты, очень сходны у разных организмов, и при изучении мутантов микроорганизмов можно получить большое число данных о деталях процессов биосинтеза.

МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ И ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАНТОВ С ИЗМЕНЕННЫМ ПИТАНИЕМ

Поскольку в изучении наследования потребностей в питательных веществах широко использовали гриб *Neurospora crassa* [290], здесь будут изложены некоторые наиболее важные принципы и методы работы с этим организмом. Жизненный цикл его схематично изображен на фиг. 28. Вегетативный мицелий в норме гаплоидный, и его можно неограниченно размножать, перенося фрагменты мицелия или споры бесполого размножения в свежую питательную среду. Мицелий образует два типа спор бесполого размножения: макроконидии, содержащие в среднем 4—5 ядер, и одноядерные микроконидии. Оба половых типа, обозначаемые A и a, дают на соответствующей среде плодовые тела, или протоперитеции [685]. После того как последние образовались, начинается половой цикл; происходит оплодотворение конидиями или мицелием, которые принадлежат к половому типу, противоположному половому типу протоперитеций. Даже в том случае, если скрещивание производится путем смешения плесневых грибов противоположных половых типов, для процесса оплодотворения необходимо образование протоперитеций и у того и у другого типа.

После того как ядро мигрировало через трихогину в протоперитеций, наблюдается большое число эквационных делений ядер противоположного полового типа, которые располагаются рядом, а затем пары сливаются. После этого каждое ядро, образовавшееся путем слияния, претерпевает мейоз и образует 4 гаплоидных ядра. В ядрах происходит два митотических деления и образуется 8 аскоспор, причем каждая из них несет 2 идентичных ядра. Пары спор идентичны также по своей генетической конституции, поскольку последние два деления являются митотическими и аскоспоры заключены в тонкостенный мешок, поддерживающий определенный порядок их расположения, обусловленный направлением расхождения ядер во время мейоза. Перитеций может содержать от 2 до 300 сумок, каждая из которых происходит из одной зиготы, и когда перитеции созревают, то аскоспоры с силой выбрасываются из сумки. Для прорастания аскоспор необходимо нагревание до 60° в течение



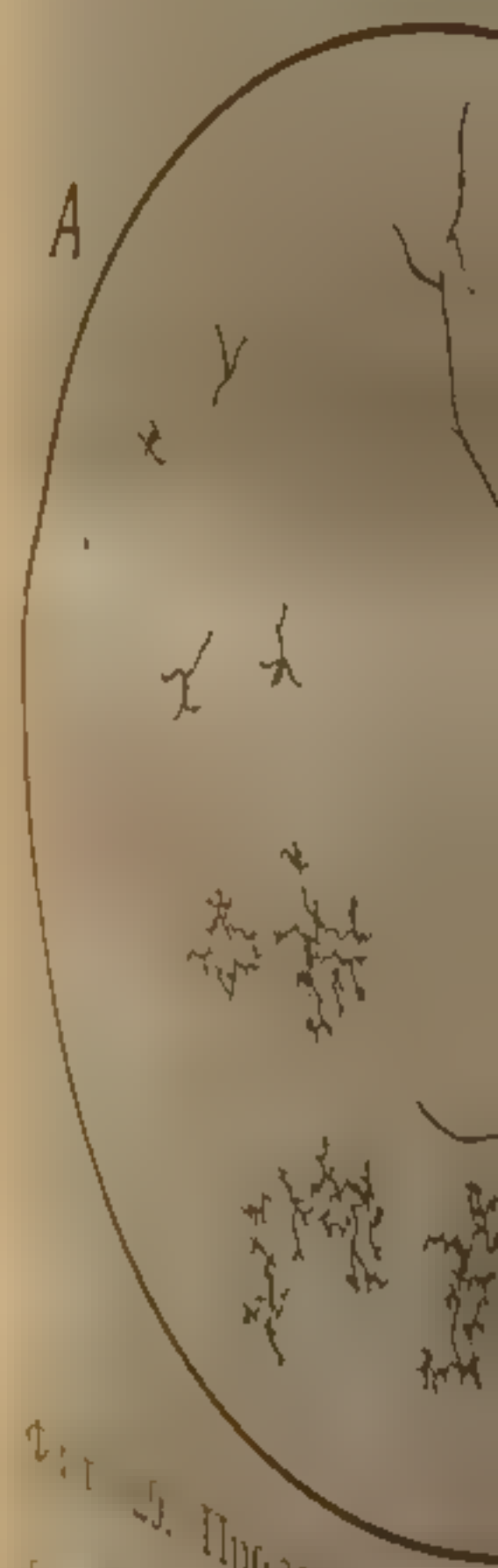


Ф и г. 28. Жизненный цикл *Neurospora crassa*.

30 мин. Весь половой цикл требует для нормальных штаммов от 10 до 15 дней. Достаточно гомогенные культуры можно получить непосредственно из аскоспор, конидиев или кусочков мицелия, однако необходимо иметь в виду, что во время развития культуры происходит несколько миллионов клеточных делений и имеется полная возможность возникновения спонтанной мутации.

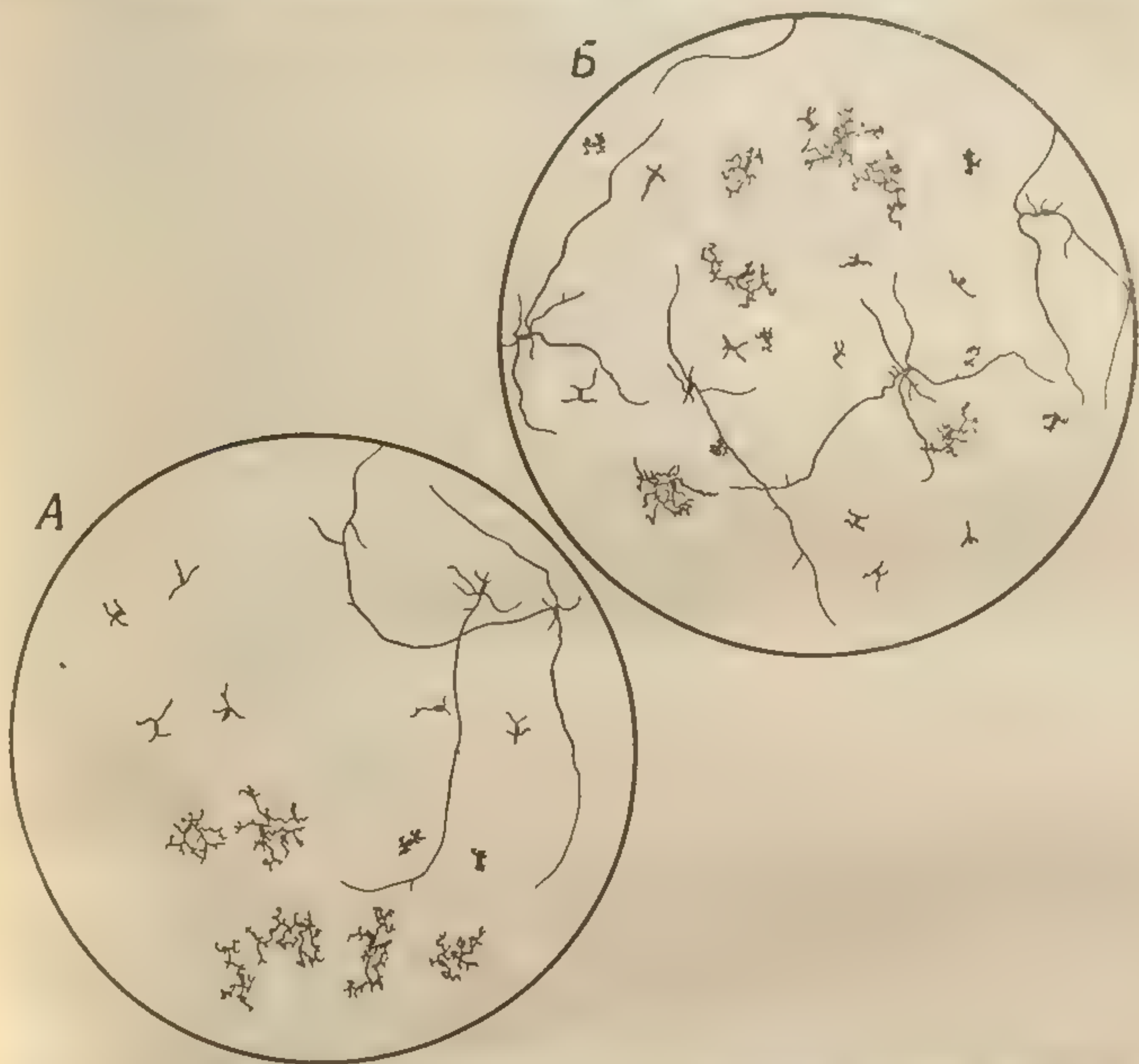
Таким образом, даже две культуры, полученные из пары идентичных аскоспор, не могут считаться абсолютно идентичными, хотя они почти всегда и кажутся такими при обычно применяемом относительно грубом критерии оценки. Совершенно очевидно, что относительно идентичные культуры дадут расщепление в последующих субкультурах, поскольку, хотя частота мутаций любого определенного гена может быть низка, в ядре имеется много генов, могущих мутировать. Мутанты с измененными потребностями в питательных веществах спонтанно возникают довольно редко, и обычно мутации, накапливающиеся при получении субкультур, лишь незначительно изменяют особенности роста. Однако возможность появления таких спонтанных мутаций необходимо иметь в виду при описании фенотипа нейроспоры и других организмов.

Генетический анализ нейроспоры можно проводить двумя путями. Из почти зрелых перитециев можно удалять целые сумки и затем разделять споры при помощи тонкой стеклянной иглы, пользуясь увеличением в 40—80 раз. Эти споры либо сразу переносят в отдельные пробирки, активируют и получают из них культуры, либо их активируют сразу после разделения в чашке Петри с агаром так, чтобы споры лежали по порядку и достаточно далеко одна от другой и чтобы фенотипы прорастающих спор можно было наблюдать непосредственно под микроскопом. Последний прием более быстрый; он применим ко многим мутантам с измененными потребностями питания, поскольку их аскоспоры прорастают, но растут очень медленно и недолго, если не добавить соответствующие питательные вещества. На фиг. 29 показаны проросшие аскоспоры, полученные при скрещивании мутантов, различающихся по форме колоний и по потребностям питания. Выделяя и просматривая большое количество аскоспор из отдельных сумок, можно определить расстояние от центромера и относительное расположение отдельных генов в 7 хромосомах нейроспоры. Генетический анализ можно производить также, используя отдельные споры, выброшенные из зрелых перитециев. Эти споры, в числе от 2 до 5000, помещают на чашки Петри с минимальной агаровой средой и затем подсчитывают общее число различных типов мицелиев. Если имеются подходящие маркеры, то этот прием оказывается очень быстрым и удобным, позволяющим исследовать большое количество потомков. На фиг. 29 изображен пример, показывающий расщепление по форме колоний и по потребности питания. Следует отметить, что при этих двух способах анализа имеются некоторые элементы отбора материала. При выделении сумок отбирают почти зрелые целые сумки, а созревание их иногда зависит от наличия определенных



Фиг. 29. Прорастающие аскоспоры. Расщепление по двум генам: на колонии и на потребность в питательных веществах. Мутант с измененной потребностью в питательных веществах (мутант с измененной потребностью в питательных веществах) и мутант с измененной формой колоний (мутант с измененной формой колоний) на чашке Петри с минимальной агаровой средой. А — вид с увеличением 50х; Б — вид с увеличением 10х. Генетический анализ по форме колоний и по потребности в питательных веществах. Мутант с измененной потребностью в питательных веществах (мутант с измененной потребностью в питательных веществах) и мутант с измененной формой колоний (мутант с измененной формой колоний) на чашке Петри с минимальной агаровой средой. А — вид с увеличением 50х; Б — вид с увеличением 10х. Генетический анализ по форме колоний и по потребности в питательных веществах.

комбинаций мутантных генов или хромосомных перестроек; при использовании выброшенных из сумок случайных спор предполагается, что выброшенные споры имеют одинаковую степень зрелости



Фиг. 29. Прорастающие аскоспоры *Neurospora crassa* (рисунки сделаны при помощи рисовального аппарата).

Видно расщепление по двум генам при скрещивании мутантов нейроспоры 70 007 (измененная форма колоний) и 38 502 (пиримидиновый). Споры выделяли на минимальной агаровой среде на чашках Петри, нагретых до 60° в течение 30 мин. для активации и инкубированных при 25° в течение 18 час. Мутант с измененным питанием (пиримидиновый) растет на минимальной среде достаточно интенсивно, чтобы идентифицировать двойные пиримидиново-колонияльные мутанты.

На фиг. А видно расщепление в двух сумках при выделении спор по порядку. Сверху вниз представлены соответственно генотипы: руг, руг, со, со и дикий тип, руг, со-руг, со. На фиг. Б видны прорастающие споры, полученные при случайном нанесении на чашку спор (то же скрещивание). Генетический анализ можно провести либо непосредственно, применяя любую процедуру, либо перенося проросшие споры для дальнейшего анализа в пробирки с соответствующей обогащенной средой. При использовании метода случайного нанесения можно просмотреть гораздо больше спор.

и это зависит от случайности. Эти два метода часто дают очень близкие величины расстояния между генами по карте, но иногда наблюдается значительное влияние отбора. По всей вероятности, методу использования случайно выброшенных спор лучше применять при очень тесном сцеплении генов, так как при этом практически удастся изучить значительно большее число потомков.

Для выделения мутантов с измененным питанием было разработано много методов как для нейроспоры, так и для других микроорганизмов. Исходный метод, разработанный Бидлем и Татумом [33], а также метод Лейна и других [362] основаны на выделении аскоспор. При этих методах конидии одного полового типа обрабатывают мутагенным агентом (см. гл. III) в дозе, которая убивает до 90% потомков. Затем эти конидии используют для оплодотворения протоперитециев противоположного полового типа. После получения зрелых протоперитециев из каждого выделяют по одной споре и переносят в пробирку, содержащую полную среду (т. е. минимальную среду, поддерживающую рост дикого типа, к которой добавлена сложная смесь метаболитов, получаемая, например, при использовании экстракта из дрожжей, гидролизованного казеина и нуклеиновых кислот). Культуры, полученные таким путем, затем испытывают на минимальной среде; если они не растут в отсутствие дополнительных веществ, их сохраняют как мутантов с измененными потребностями питания.

Согласно методу Лейна и других [362], на чашках Петри производят скрещивания, используя обработанные конидии, и, после того как из зрелых протоперитециев начинают выбрасываться споры (2—5000 на чашку), эти чашки на короткое время переворачивают над пластинками с минимальной агаровой средой. Тысячи спор, собранные таким образом на пластинке с минимальной средой, затем активируют высокой температурой; они прорастают и растут в течение 20 час.

К этому времени, как это показано на фиг. 29, мутанты удается отличить от диких типов. Те мицелии, в которых предполагается наличие мутантов, переносят на полную среду, а затем испытывают снова на минимальной, как описано выше. Впоследствии выясняют специфические пищевые потребности мутантов путем систематических анализов на минимальной среде, к которой добавляют отдельные чистые метаболиты — аминокислоты и витамины.

Необходимо отметить, что большинство мутантов, полученных в подобных экспериментах, обычно отбрасывают, так как они не удовлетворяют критериям, установленным для мутантов с измененными потребностями питания. Некоторые слишком интенсивно растут на минимальной среде; другие после получения субкультур возвращаются к исходному типу; многие из мутантов растут очень медленно, и рост их недостаточно стимулируется на полной среде. О наличии подобного отбора говорят данные по выделению мутантов с измененными потребностями питания при помощи обоих вышеописанных методов. Например, при использовании указанной выше методики [33] в одной серии опытов проросло 7049 аскоспор из 8795 изолированных. Среди проросших аскоспор было отобрано 54 явных мутанта с измененными пищевыми потребностями. Но отличия от дикого типа были обнаружены у гораздо большего числа спор — 489, отличавшихся медленным ростом на полной среде. Однако 159 из них росли слишком медленно, и их не удалось про-

анализировать. Остальные 330 были отброшены, так как они не обнаружили достаточно ясной реакции на добавление определенных питательных веществ.

Те же самые принципы, без сомнения, применимы и к выделению мутантов с измененными пищевыми потребностями при использовании методики, где на пластинке помещаются споры бесполого размножения, а также к подобного типа опытам с другими организмами. При работе с нейроспорой мутанты с измененными пищевыми потребностями были получены при помещении обработанных макро- и микроконидий непосредственно на пластинки с минимальной средой, к которой для стимуляции роста колоний была добавлена сорбоза [640]. После того как прорастали конидии дикого типа, к питательной среде добавляли питательные вещества и выделяли новые прорастающие колонии. При другой видоизмененной методике споры дикого типа проращивают в жидкой питательной среде [704]. Затем их отфильтровывают, остальные споры помещают на пластинку, а затем мутанты изолируют и идентифицируют описанным выше методом. Эти приемы позволяют анализировать очень большое число отдельных конидий, и они особенно полезны для отбора штаммов с желательными потребностями в питательных веществах. В связи с этим было обнаружено [362], что рост целого ряда явных мутантов с измененным питанием тормозится веществами, входящими в состав полной питательной среды, и часто оказывается необходимым отбирать их на минимальной среде, добавляя к ней лишь один метаболит.

ТИПЫ МУТАНТОВ С ИЗМЕНЕННЫМ ПИТАНИЕМ

Применение описанных выше методов для выделения мутантов нейроспоры с измененным питанием привело к получению большого разнообразия форм с потребностью в определенных питательных веществах. Данные о них суммированы в табл. 13. В таблицу включены данные о сцеплении, накаплиющихся веществах и ссылки на литературу.

Некоторые более или менее типичные кривые роста для мутантов, нуждающихся в витаминах и аминокислотах, приведены на фиг. 30. Скорость роста многих мутантов приближается к таковой дикого типа, и они имеют в присутствии требуемых метаболитов сухой вес, почти равный среднему весу штаммов дикого типа. Однако у некоторых мутантов не наблюдается нормального роста даже в присутствии избытка требуемого метаболита. Было выделено много мутантов, рост которых составляет лишь около 10% от роста дикого типа.

Появление потребности в питательном веществе связано с рядом физиологических особенностей, что подробнее обсуждается в гл. VIII. Очень часто наблюдается пониженная жизнеспособность. Многие из мутантов нейроспоры не дают аскоспор при скрещивании в пределах штамма; кроме того, наблюдается широкое варьирова-

Таблица 13

Примеры мутантов *Neurospora crassa* с измененным питанием*

Штамм	Данные о сцеплении	Необходимые химические соединения	Накапливаемое соединение	Литература
47904	—	Холин, диметиламиноэтанол, метионин	Монометиламиноэтанол	[297, 288]
34486	D	Холин, монометиламиноэтанол, диметиламиноэтанол		[291, 297, 288]
37401	E	Инозит		[25, 190]
4540	A	Никотиновая кислота	Незначительные количества α -N-ацетилкинуренина, 3-оксиатраниловой кислоты	[35, 427, 262, 270, 717]
3416	A	То же	Хинолиновая кислота	[427, 35, 54, 270, 717, 718, 470]
E5029	—	Никотиновая кислота, 3-оксиатраниловая кислота, 3-оксикинуренин	α -N-Ацетилкинуренин, кинуреновая кислота	[262]
Y31881	—	То же	α -N-Ацетилкинуренин	[717]
5531	D	Пантотеновая кислота		[633, 33, 674]
1633		<i>p</i> -Аминобензойная кислота		[637, 649, 162, 163, 720]
7803	D	Пиридоксин		[619, 33]
51602	B	Рибофлавин		[419]
18558	A	Тиамин	Пиримидин	[635]
9185	C	То же	Тиазол и пиримидин	[635]
32213	—	Любая аминокислота, кроме цитруллина, треонина, гомосерина, серина, лизина, гистидина, глицина		[178, 179]
36703	—	Аргинин		[591, 592]
33 442	—	Аргинин, цитруллин		[589, 890, 592]
30 837	A	Аргинин, цитруллин, орнитин		[591, 592]

Штамм	Данные о сцеплении	
51077	—	A
30820	—	A
C84		Г
51504	A	Го
16117	E	Из
33757	C	Ле
15069	A	Ли
4545	A	Ли
33933	E	Ли
38706	A	по
Н98	A	Σ
36104	—	Ме
466	E	Ме
36861	D	ци
39762	—	То
	—	Ме
	—	сте
	—	ци
	—	Ме
	—	сте
	—	ци
	—	су

Продолжение таблицы 13

Штамм	Данные о сцеплении	Необходимые химические соединения	Накапливаемое соединение	Литература
51077	—	Аргинин, цитруллин, орнитин, пролин, α -амино- δ -оксивалеровая кислота		[592]
30820	—	Аргинин, цитруллин; лучше, если каждая из них вместе с аденином		[589, 590]
C84		Гистидин	Имидазолглицерин, имидазолглицерин-фосфат, α -кетоизовалеровая кислота, пировиноградная кислота	[242]
51504	A	Гомосерин		[642, 646]
16117	E	Изолейцин и валин	α - β -Диокси- β -этил-масляная кислота и β -метилмасляная кислота	[50, 1, 2]
33757	C	Лейцин		[509, 531]
15069	A	Лизин		[214]
4545	A	Лизин, Σ -оксинорлейцин	Кислотолабильный фосфат, α -кетоизовалеровая кислота, пировиноградная кислота	[145, 303, 214]
33933	E	Лизин, α -аминоадиповая кислота, Σ -оксинорлейцин		[304, 214]
38706	A	Метионин		[289]
H98	—	Метионин, гомоцистеин	Цистатионин	[289, 720]
36104	E	Метионин, гомоцистеин, цистатионин		[289, 720]
9666	D	То же	Гомосерин и треонин	[181]
86801	—	Метионин, гомоцистеин, цистатионин, цистеин		[484]
80702	—	Метионин, гомоцистеин, цистатионин, цистеин, цистеинсульфоновая кислота		[484]

Продолжение таблицы 13

Штамм	Данные о сцеплении	Необходимые химические соединения	Накапливаемое соединение	Литература
35001		Метионин, гомоцистеин, цистатионин, цистеин, цистеин-сульфоновая кислота, цистеиновая кислота		[484]
8043M	—	Метионин, <i>п</i> -аминобензойная кислота		[622]
E5212	—	Фенилаланин		[262]
21863	C	Пролин		[530, 592]
H605	C	Серин, глицин		[307]
Y5015	—	Серин, глицин, гликолевая кислота, глиоксиловая кислота		[705]
T3207		Серин, формиат, формальдегид		[260]
35423		Треонин		[642]
44104		Треонин, α -аминомасляная кислота, изолейцин		[642]
C83		Триптофан	Соединение, сходное с индолом, антраниловая кислота	[423, 262, 470]
10575	C	Триптофан, индол	Антраниловая кислота	[35, 641, 423, 262, 717, 470]
40008		Триптофан, антраниловая кислота, индол		[459]
75001		Триптофан, антраниловая кислота, индол, кинуренин		[717, 470]
39401		Триптофан, индол, кинуренин, 3-оксиантраниловая кислота, никотиновая кислота	Кислотолабильный фосфат	[427, 303, 55, 717, 470]
C86		Триптофан, тирозин, циннамовая кислота, антраниловая кислота, индол, кинуренин, 3-оксикинуруенин, 3-оксиантраниловая кислота, никотиновая кислота, хинная кислота, фенилаланин		[262, 217, 358]

*Данные о сцеплении в сроке со-сенных в табл. основе получения в питании у да-нако необходи-таций та-

Продолжение таблицы 13

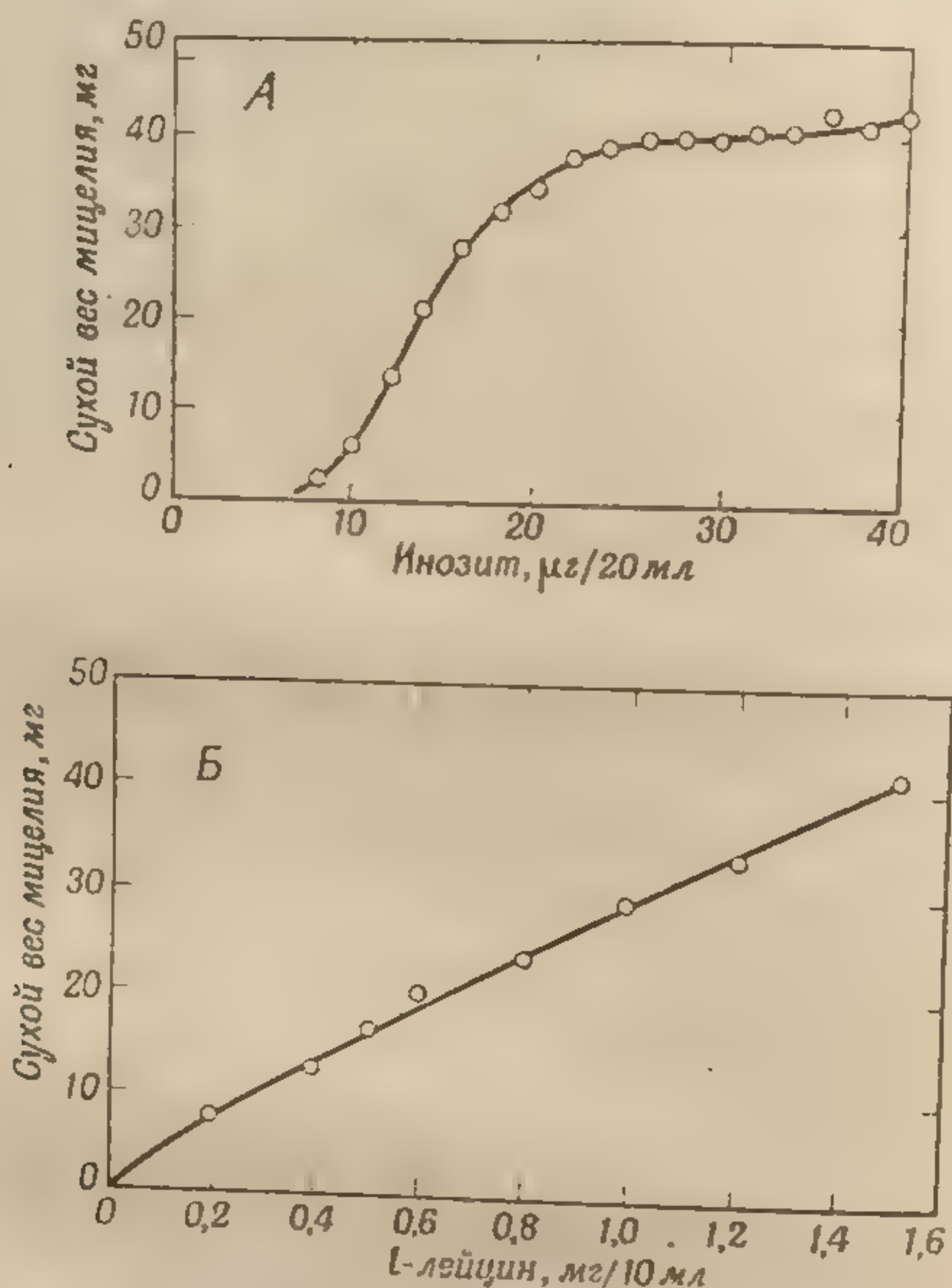
Штамм	Данные о сцеплении	Необходимые химические соединения	Накапливаемое соединение	Литература
35203	A	Аденин, гипоксантин	Пурпуровый пигмент	[420, 424]
37301	D	Урацил, цитидин	Кислотолабильный фосфат, пировиноградная кислота	[302, 303, 421, 428]
38502	D	То же	Оротовая кислота, оротидин	[302, 303, 304, 421, 428]
263	D	Урацил, цитидин, оротовая кислота	Пировиноградная кислота	[302, 304, 421, 428]
S-210		Уксусная кислота, миристиновая кислота, линолевая кислота, линоленовая кислота	Ацетилметилкарбинол	[360, 361, 620, 621]
Y-2492		Уксусная кислота, этиловый спирт		[466]
S11		Ненасыщенные жирные кислоты, олеиновая, линолевая и линоленовая кислоты		[359]
37602	A	Янтарная, фумаровая, яблочная, α -кетоглутаровая, щавелевая, янтарная, ацетоуксусная, глутамовая, аспарагиновая кислоты		[374]
C24		Формиат, формальдегид, аденин + метионин		[260]
A16		Нитрит, аммиак, неспособен использовать нитраты		[134]
UV392		Аммиак, неспособен использовать нитриты и нитраты		[134]

*Данные о сцеплении см. [305].

ние в сроке созревания перитециев. Большая часть мутантов, внесенных в табл. 13, была подвергнута генетическому анализу, и на основе полученных данных можно было сделать вывод, что изменения в питании у данного штамма связаны с мутацией одного гена. Однако необходимо подчеркнуть, что любой штамм может нести мутации тесно сцепленных генов и во многих случаях данные недоста-

точны, чтобы исключить возможность мутации двух генов, отстоящих друг от друга на одну или две единицы по карте.

В обсуждении данных гл. IV о наследовании пигментов уже было указано на возможность использования данных о наследуемых химических различиях для того, чтобы сделать выводы о процессах биосинтеза. Мутанты микроорганизмов с измененным питанием



Фиг. 30. Кривые роста двух мутантов нейроспоры с измененным питанием [25, 509].
А — штамм 37401 (инозит), Б — штамм 33757 (лейцин).

оказались особенно ценными в этом отношении, что ясно показано в обсуждении типов обмена в гл. VIII. Принципы, применяемые в опытах, которые проводятся для выяснения этих проблем, очень просты. Часто не нужно даже знать механизма, благодаря которому гены контролируют биохимические реакции, если удастся установить, что какая-либо определенная мутация эффективно блокирует специфическую реакцию. Мутант можно использовать так же, как используют специфические ингибиторы.

Прежде чем приступить к более детальному обсуждению, рассмотрим в качестве примера серию мутантов нейроспоры, нуждаю-

шихся в...
чески различ...
цитруллин...
1 — только...
быть получе...
ний, как п...
у генетическ...
и тот же м...
Вещество, а...
м. л. 100 мг

① ② ③

Фиг. 31. Серия биох...

биохимических ре...
степень химически...
личных способов. С...
было установлено на...

Согласно этому...
могут использовать...
после этого блока и...
до него. Однако это...
блокируется лишь ч...
ряда изменений в...

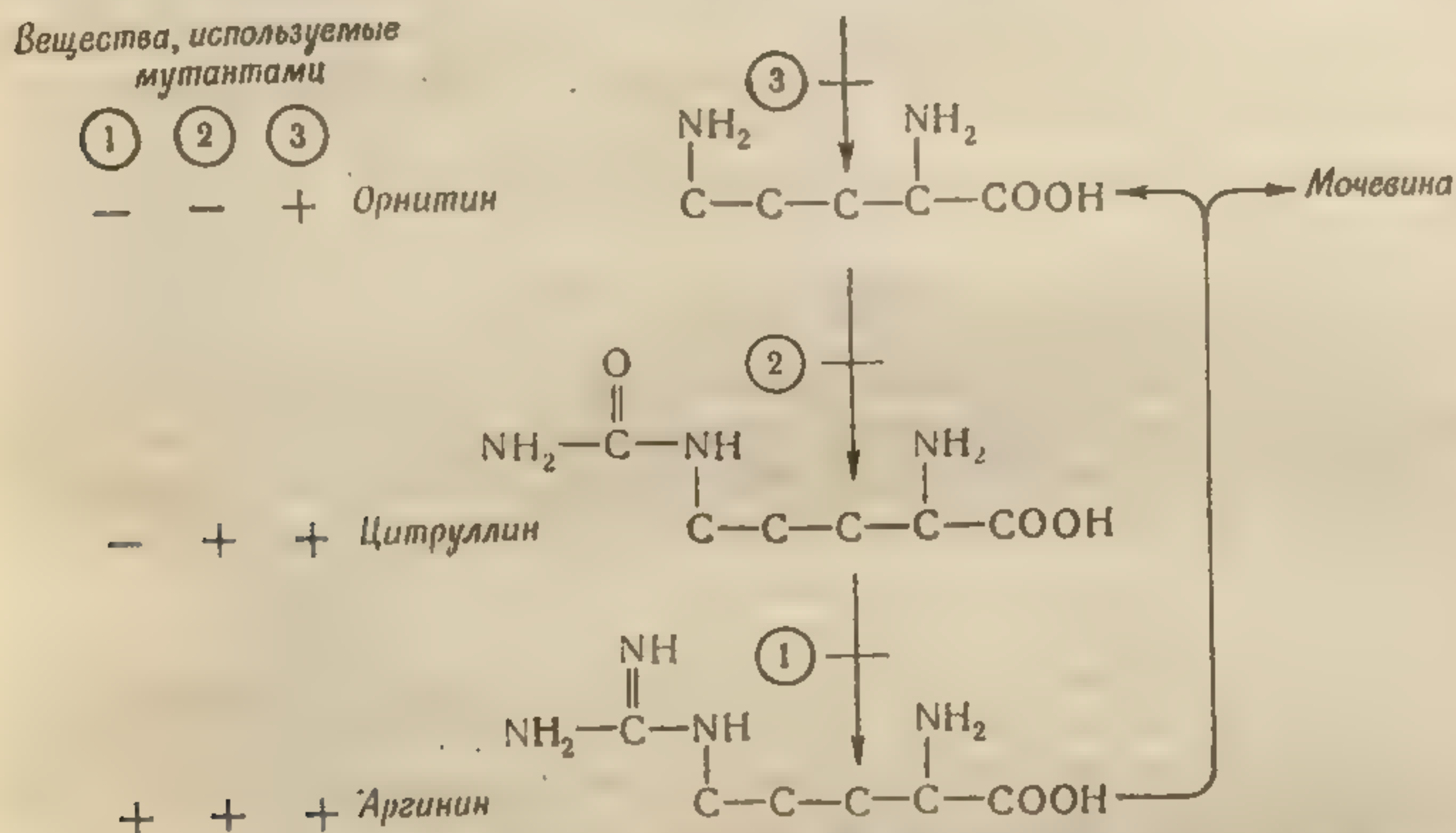
Как показано в...
щества, связанные в...
мутанта питательны...

ной степени; путе...
можно получить дал...
синтеза. Из последую...

ме генов, использую...
химической реакции...
нако приводимая э...

эксперимента...

щихся в аргинине, которые изображены на фиг. 31. Из трех генетически различных мутантов мутант 3 может использовать орнитин, цитруллин и аргинин, мутант 2 — цитруллин или аргинин и мутант 1 — только аргинин. Эти факты показывают, что аргинин может быть получен из орнитина *in vivo* посредством линейной серии реакций, как показано на фиг. 31. Таким образом, делается вывод, что у генетически различных мутантов, способных использовать один и тот же метаболит, часто блокированы различные ступени в серии



Фиг. 31. Серия биохимических реакций на примере мутантов нейроспоры.

биохимических реакций. Это не всегда так, поскольку каждая ступень химически сложна и может быть блокирована рядом различных способов. Однако в общем этот принцип правилен, что было установлено на основании исследований многих серий реакций.

Согласно этому принципу, мутанты с измененным питанием могут использовать промежуточные продукты, которые получаются после этого блока и не будут использовать те, которые получаются до него. Однако это идеальная ситуация, и очень часто процесс блокируется лишь частично и полнота выражения блока зависит от ряда изменений внутренней и внешней среды.

Как показано в табл. 13, некоторые мутанты накапливают вещества, связанные в процессе биосинтеза с необходимым для роста мутанта питательным веществом и образующиеся до блокированной ступени; путем выделения и идентификации этих веществ можно получить дальнейшие дополнительные данные о путях биосинтеза. Из последующих глав будет ясно, что в практике экспериментов, использующих эту простую картину связи между геном и химической реакцией, встречаются значительные затруднения, однако приводимая здесь качественная картина очень полезна для экспериментальных исследований [290, 293].

Нейроспора — это не единственный организм, у которого интенсивно изучали мутанты с измененным питанием. Среди других грибов мутанты с измененным питанием, идентичные или родственные по типу найденным у нейроспоры, обнаружены у *Ophiostoma* [186, 188], *Aspergillus* [491], *Ustilago* [482] и *Penicillium* [52]. Линдгрэнс и Помпер [379, 380, 488] искусственно получили и изучили мутанты с измененным питанием у дрожжей, а многие другие исследователи [131—133, 223, 356] обнаружили, что кишечная палочка представляет собой особенно удобный организм для получения мутантов с измененным питанием и использования их в изучении путей обмена (см. гл. VIII). В частности, Дэвису [133] удалось успешно проанализировать биосинтез ароматических аминокислот при помощи мутантов кишечной палочки.

ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Экспериментальные данные, изложенные в данной и предыдущей главах, дают ряд примеров, показывающих, что эффект генной мутации заключается в том, что она специфическим образом и в различной степени изменяет химический состав клетки. Ясно, что это происходит благодаря изменению скорости превращения одних химических соединений в другие; часто создается впечатление, что действие определенного гена соответствует определенной специфической реакции. Такая простая непосредственная взаимосвязь не означает, однако, что механизм генного контроля также является простым и прямым.

Химический состав клетки представляет собой суммарный результат относительных скоростей реакций, и генетический блок лишь сдвигает интенсивность реакций в другие каналы. Если относительная скорость реакций допускает накопление какого-либо вещества в значительных количествах, наблюдается появление определенного химического соединения. Эти замечания предварительны; подробнее они обсуждаются в других главах. Здесь они приведены лишь для того, чтобы подчеркнуть, что наследуются не химические различия, а процессы, приводящие к определенному химическому составу клеток особи.

Глава VI

НЕКОТОРЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОХИМИИ

В пределах чувствительности химических и физических аналитических методов можно дать достаточно точное описание многих химических различий, обусловленных изменениями в генетической конституции организма. Несколько зависимостей подобного рода обсуждалось в главах IV и V. Использование этих методов дало очень много ценных данных, но даже в том случае, когда станет возможным точно определять сложные химические компоненты клетки, так же как и более простые, эти знания сами по себе не могут обеспечить понимание проблемы генетического контроля биохимической конституции. Необходимы, кроме того, знания о механизмах и скоростях превращений химических компонентов клетки. Действительно, именно этот динамический аспект биохимии имеет наиболее важное значение, так как химический состав клетки может рассматриваться только как результат сложного взаимодействия биохимических реакций. Вообще существование определенных концентраций химических компонентов клетки является следствием равновесия между скоростями реакций, посредством которых они образуются, и скоростями реакций, посредством которых они переходят в другие соединения. При постоянных условиях окружающей среды скорости реакций и, таким образом, химический состав должны оставаться постоянными в любой уже сбалансированной системе; следовательно, такие системы можно называть функционирующими в условиях устойчивого состояния. Очевидно, что в такой сбалансированной системе даже бесконечно малые изменения в скорости какой-либо реакции должны привести к перестройке всей системы.

Как уже давно указывалось Гольдшмидтом [205] и Райтом [707], имеются достаточные экспериментальные данные, подтверждающие положение, что генные мутации вызывают изменения в скоростях биохимических реакций и, следовательно, важны для понимания факторов, влияющих на относительные скорости реакций. К сожалению, биохимия не достигла того положения, при котором она могла бы дать все необходимые для этой цели сведения. Тем не менее все данные, которые можно получить, следует тщательно рассмотреть при разборе проблемы генетического контроля обмена веществ. Материалы этой и нескольких последующих глав пред-

ставляют собой попытку выбрать наглядные факты, которые кажутся наиболее близкими к исследуемой проблеме. Идею об изменениях в процессах обмена веществ посредством больших или малых изменений в скоростях реакций следует иметь в виду на протяжении всего обсуждения.

СКОРОСТИ РЕАКЦИЙ

Некоторые свойства ферментов

Известные биохимические катализаторы или ферменты представляют собой белки или белки в соединении с другими веществами различной сложности. Они вырабатываются во всех живых клетках. Свыше 50 ферментов было получено в кристаллическом виде и было показано, что вообще их существует в несколько раз больше. Ферменты имеют молекулярный вес, лежащий в пределах приблизительно от 20 000 до 1 000 000 или больший, многие из них растворяются в воде или в слабом растворе NaCl, образуя коллоидные растворы. Вследствие большого размера молекул ферментов и сопутствующих им коллоидных свойств невозможно еще установить критерий, при помощи которого они могли бы быть описаны как чистые вещества с известной структурой и пространственной конфигурацией. Совершенно ясно, что кристаллическое состояние не является достаточным критерием чистоты. Несмотря на это, для ряда ферментов была достигнута достаточная степень очистки, так что несомненно, что каталитическая активность действительно обусловлена свойствами больших молекул, а не адсорбированными ими примесями. Тем не менее большинство ферментов может быть выявлено только по их активности.

Вообще считается, что фермент не начинает реакцию и не предоставляет энергию для химических изменений. Он может переносить энергию, что часто и имеет место, но специфическая реакция, которую он катализирует, должна быть термодинамически возможной (см. стр. 145 — сопряженные реакции). Ферменты просто увеличивают скорости спонтанных реакций, и в физиологических условиях это увеличение может быть очень большим. Действие фермента, регулирующего скорость реакции, подвержено влиянию различных факторов окружающей среды, многие из которых обнаруживают его посредством изменения эффективной концентрации самого фермента. Некоторые из этих имеющих большое значение переменных перечислены ниже.

1. Концентрация фермента.
2. Концентрация субстрата или субстратов.
3. Концентрация ингибиторов (включая продукты реакции).
4. Концентрация различных ионов (таких, как ионы водорода).
5. Температура.
6. Окислительно-восстановительный потенциал среды.

Две переменных — температура и pH — широко использовались в энзимологии в качестве критериев для характеристики ферментов.

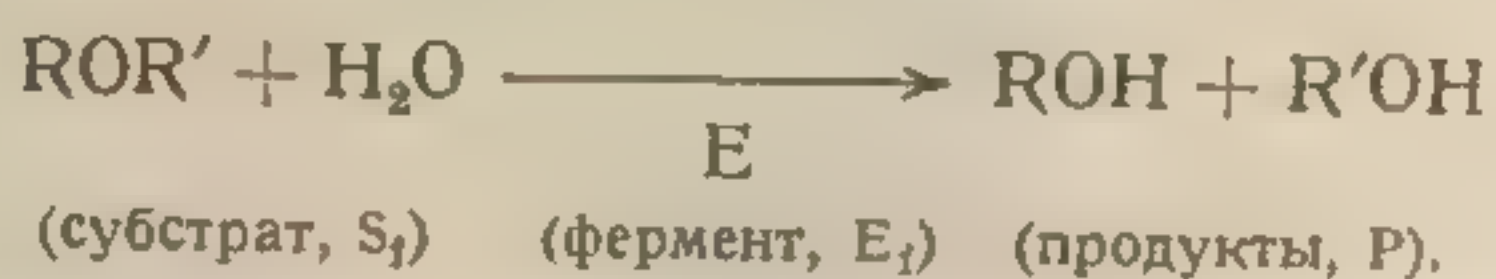
Однако даже в очень хорошо очищенных системах установленные экспериментальным путем оптимальные значения pH и температуры в значительной мере зависят от используемых в эксперименте методов их оценки. Причина этого заключается в том, что наблюдаемая скорость реакции часто суммируется из истинной скорости реакции и скорости реакции, на которую оказывает влияние денатурация фермента. В частично очищенных системах или системах, существующих *in vivo*, эти отклонения могут быть значительными и очень сложными по своей природе вследствие стабилизирующего или денатурирующего действия окружающих их химических веществ. Кроме того, свойства фермента *in vivo* могут и не быть идентичными или даже очень сходными со свойствами того же фермента в очищенном состоянии. Однако можно сказать, что при различных условиях фермент будет подвергаться влиянию тех же переменных, но не обязательно в той же степени.

Вообще ферменты представляют собой неустойчивые соединения даже при физиологических условиях, где крайние значения pH, а также высокие температуры и высокие концентрации солей обычно не встречаются. Когда такие крайние условия представляют собой норму, как например сильная кислотность желудка или условия среды, в которых живут организмы, приспособленные к повышенным температурам, присущие ферментам свойства сообщают им относительную устойчивость в крайних условиях. Другое важное свойство некоторых ферментов заключается в том, что их устойчивость к различным изменениям окружающей среды может увеличиваться в присутствии субстратов, на которые ферменты действуют [336, 401]. Многие исследователи обнаружили, что добавление субстратов способствует повышению выхода при выделении различного рода ферментов, но защитное действие субстратов систематически изучалось мало. Такое защитное действие может иметь большое значение в поддержании сбалансированного взаимодействия между ферментами в клетке или в накоплении фермента в адаптивных системах (см. стр. 309).

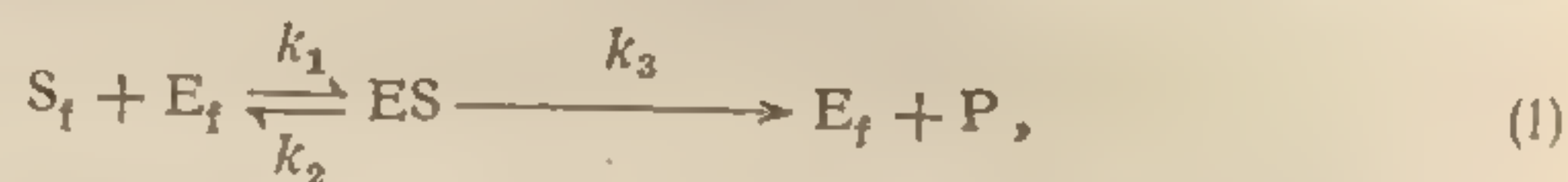
Предшествующее общее обсуждение свойств ферментов по необходимости кратко, и для дальнейшего ознакомления с деталями читатель отсылается к обширной литературе по данному предмету [345, 360]. Теперь важно рассмотреть количественную сторону вопроса о скоростях реакций в катализируемых ферментами системах. Как уже указывалось, количественные отношения, определяемые на изолированных ферментах, вероятно, не приложимы при описании действия тех же ферментов *in vivo*. Тем не менее в обоих случаях на скорость реакции оказывают влияние одни и те же факторы, и изучение в количественном отношении изолированных реакций, катализируемых ферментами, дает большое число данных, имеющих по крайней мере качественное значение для понимания свойств ферментных систем *in vivo*. Некоторые существенные моменты количественной энзимологии суммированы в последующих разделах.

Определение скоростей реакций

Рассмотрим простую изолированную систему, содержащую чистый фермент и чистый субстрат, растворенные в воде или буфере. Для гидролитических реакций может быть написано следующее уравнение:



Так как общая концентрация H_2O заметно не изменяется во время реакции, то этим компонентом можно пренебречь. Предположим, что реакция протекает путем образования комплекса субстрат—фермент и что комплекс может распадаться, образуя исходные реагенты или фермент плюс продукты реакции согласно следующему уравнению:



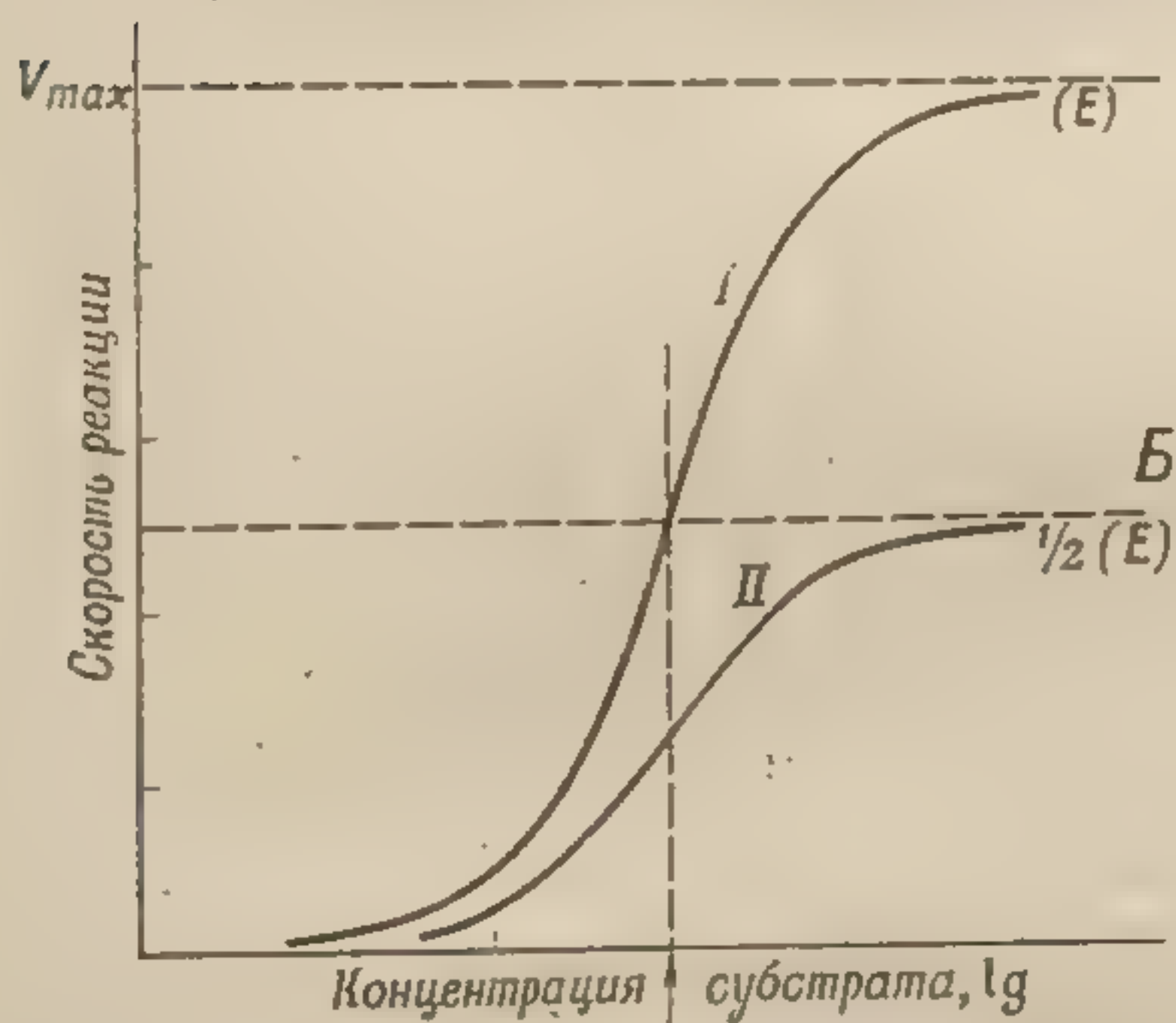
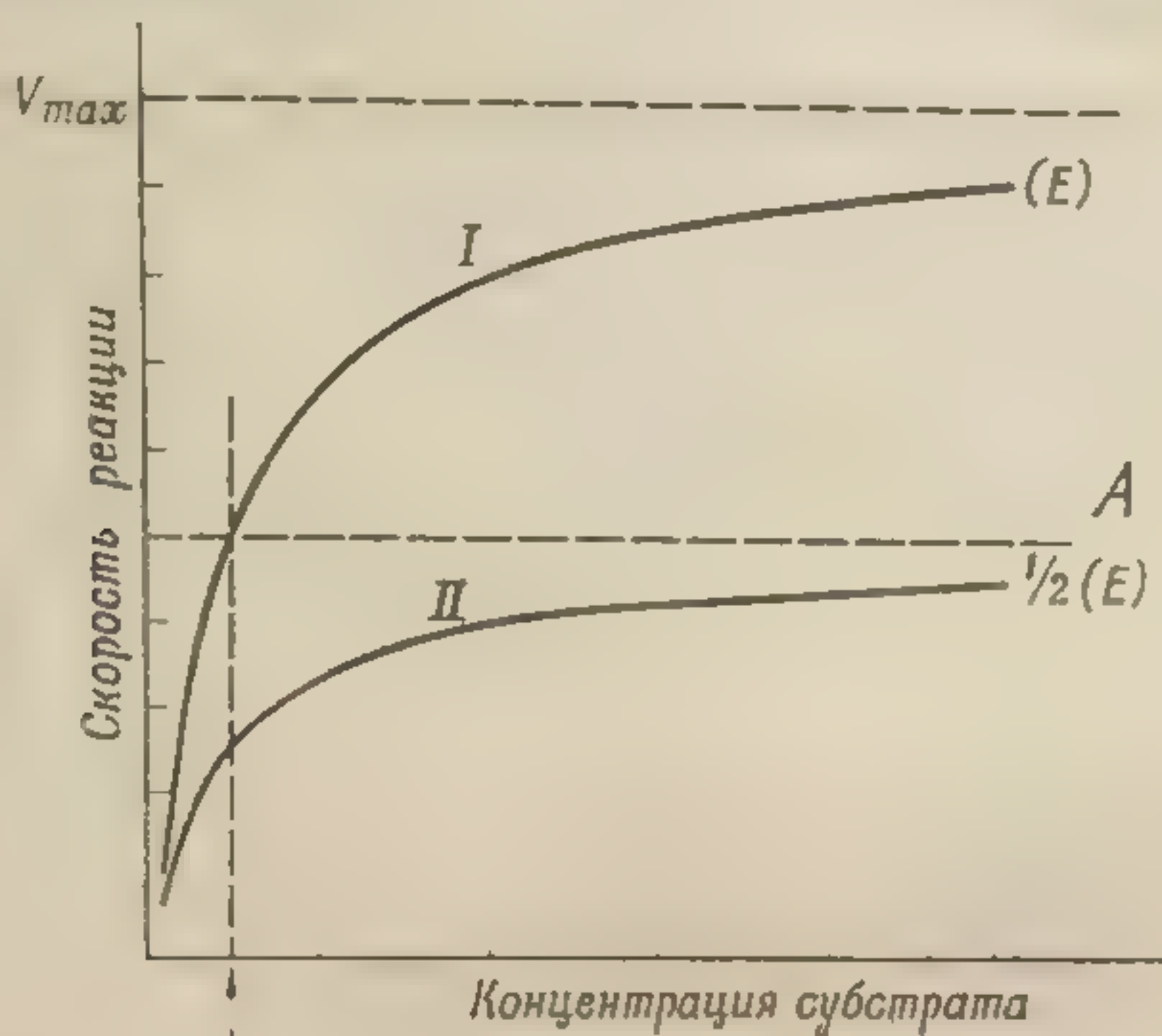
где индекс f — свободное, не связанное ни с чем вещество, k_1 , k_2 и k_3 — константы скоростей реакций. Применяя закон действия масс и несколько разумных допущений, Михаэлис и Ментен [411] вывели уравнение, которое связывает концентрацию субстрата $[S]$ и скорость реакции v , для реакции (1):

$$v = \frac{V_{\max.} [S]}{K_{\max.} + [S]}. \quad (2)$$

Здесь константа диссоциации $K_{\max.} = k_2/k_1 = [E_f][S_f]/[ES]$ и численно равна $[S]$ при половине максимальной скорости. Максимальная скорость ($V_{\max.}$) — теоретическая величина, к которой приближается v при высоких концентрациях субстрата. При этих условиях молекула фермента окружена молекулами субстрата и при каждом распаде комплекса ES новые молекулы субстрата немедленно заменяют их. Хотя состояние фермента в такой системе часто рассматривается как насыщенное, совершенно очевидно, что полное насыщение не может быть достигнуто. Вопрос об образовании комплекса ES сложен, так как имеются достаточные доказательства того, что E и S могут соединяться более чем одним способом. Это, вероятно, особенно важно для реакций, где S представляет собой большую, сложную молекулу. Каждая комбинация, возможно, изменяет скорость реакции свойственным ей характерным образом, т. е. при некоторых комбинациях реакция может вообще не происходить, и они, в сущности, уменьшают концентрацию фермента и тем самым скорость всей реакции. Этот случай был обработан математически Фостером и Ниemenом [183].

Графическое изображение уравнения (2) представлено на фиг. 32. Кривые графика A , возможно, наиболее привычны, но кривые графика B более поучительны, так как они показывают, что с умень-

шением концентрации субстрата v приближается к нулю, тогда как при увеличении концентрации субстрата скорость реакции приближается к максимальной.



Фиг. 32. Графическое изображение уравнения Михаэлиса—Ментена.

А — зависимости скорости реакции от концентрации субстрата (последняя дана в относительных единицах); Б — концентрация субстрата в относительных единицах дана в логарифмической шкале. Кривые приближаются к крайним значениям скорости. Концентрация фермента в случае кривой II в 2 раза меньше, чем в случае кривой I. Стрелка показывает константу диссоциации K_s , равную концентрации субстрата,

$$\text{когда } v = \frac{V_{max}}{2}.$$

Сформулированное выше уравнение (2) удивительно хорошо согласуется с многими экспериментальными данными, полученными на изолированных ферментах и при относительно высоких концентрациях субстрата. Однако, как указывали Штраус и Гольдштейн

[212, 618], уравнение (2) не содержит члена $[E_f]$ — концентрация фермента и, кроме того, уравнение должно содержать член k_3 , как часть константы диссоциации. Введение этих членов в уравнение обеспечивает более общее описание катализируемых ферментами процессов. Получение такого общего отношения особенно важно для настоящего обсуждения, так как в системах, существующих *in vivo*, отношение $[S]/[E]$ может колебаться в пределах, приближающихся к $+$ или $-\infty$. По этим соображениям формулировку Штрауса и Гольдштейна следует предпочесть уравнению (2), и некоторые детали их выводов приводятся ниже.

Реакция, выраженная уравнением (1), рассматривается как часть целой цепи реакций, протекающих в устойчивом состоянии. Допустим, что $[ES]$ остается постоянным, тогда $d[ES]/dt = 0 = k_2[ES] + k_3[ES] - k_1[S_f][E_f]$ и S поставляется и превращается в P с определенной скоростью v . Такое устойчивое состояние, возможно, приближается к условиям, имеющим место при ферментативных реакциях *in vivo*, по крайней мере в течение коротких периодов времени при постоянной физической, химической и генной среде.

Исходя из уравнения (1) и пренебрегая возможностью обратной реакции от P к S , получим

$$K_s = \frac{[E_f][S_f]}{[ES]} = \frac{k_2 + k_3}{k_1} \quad (3)$$

II

$$([E_{\text{общ.}}] = [E] = [E_f] + [ES], \quad (4)$$

тогда как

$$[S_{\text{общ.}}] = [S] = [S_f] + [ES]. \quad (5)$$

Как указывалось ранее,

$$v = k_3 [ES]$$

II

$$V_{\text{max.}} = k_3 [E_{\text{общ.}}],$$

так как $[E_{\text{общ.}}] = [ES]$ при максимальной скорости.

Теперь для удобства определим парциальную активность

$$a = \frac{v}{V_{\text{max.}}} = \frac{[ES]}{[E]} \text{ и, таким образом, } [ES] = a [E]. \quad (6)$$

Подставляя в уравнение (3) значение $[E_f]$, $[S_f]$ и $[ES]$, из уравнений (4), (5) и (6) соответственно получим следующее равенство:

$$[S] = K_s \frac{a}{1-a} + a [E]. \quad (7)$$

Чтобы далее упростить уравнение (7) для практических целей, Штраус и Гольдштейн ввели понятие удельной концентрации, которая, подобно удельному весу, не имеет размерности. Удельная концентрация E равна $E'_s = [E]/K_s$, а удельная концентрация S равна $S' = [S]/K_s$. Подставляя эти значения в формулу (7), получаем общее безразмерное уравнение

$$S' = \frac{a}{1-a} + a E'_s. \quad (8)$$

Уравнение (7)
тем замены членов

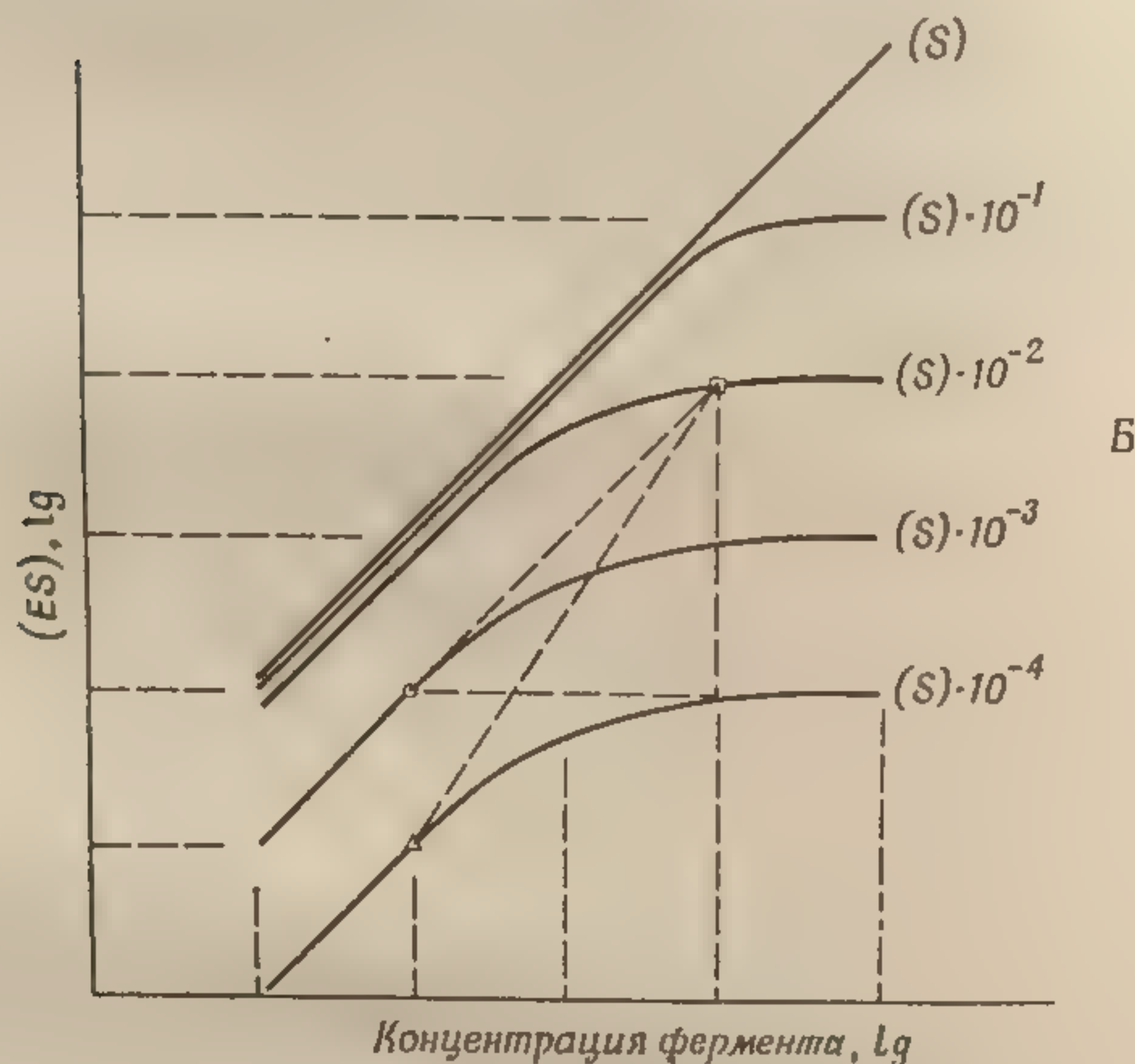
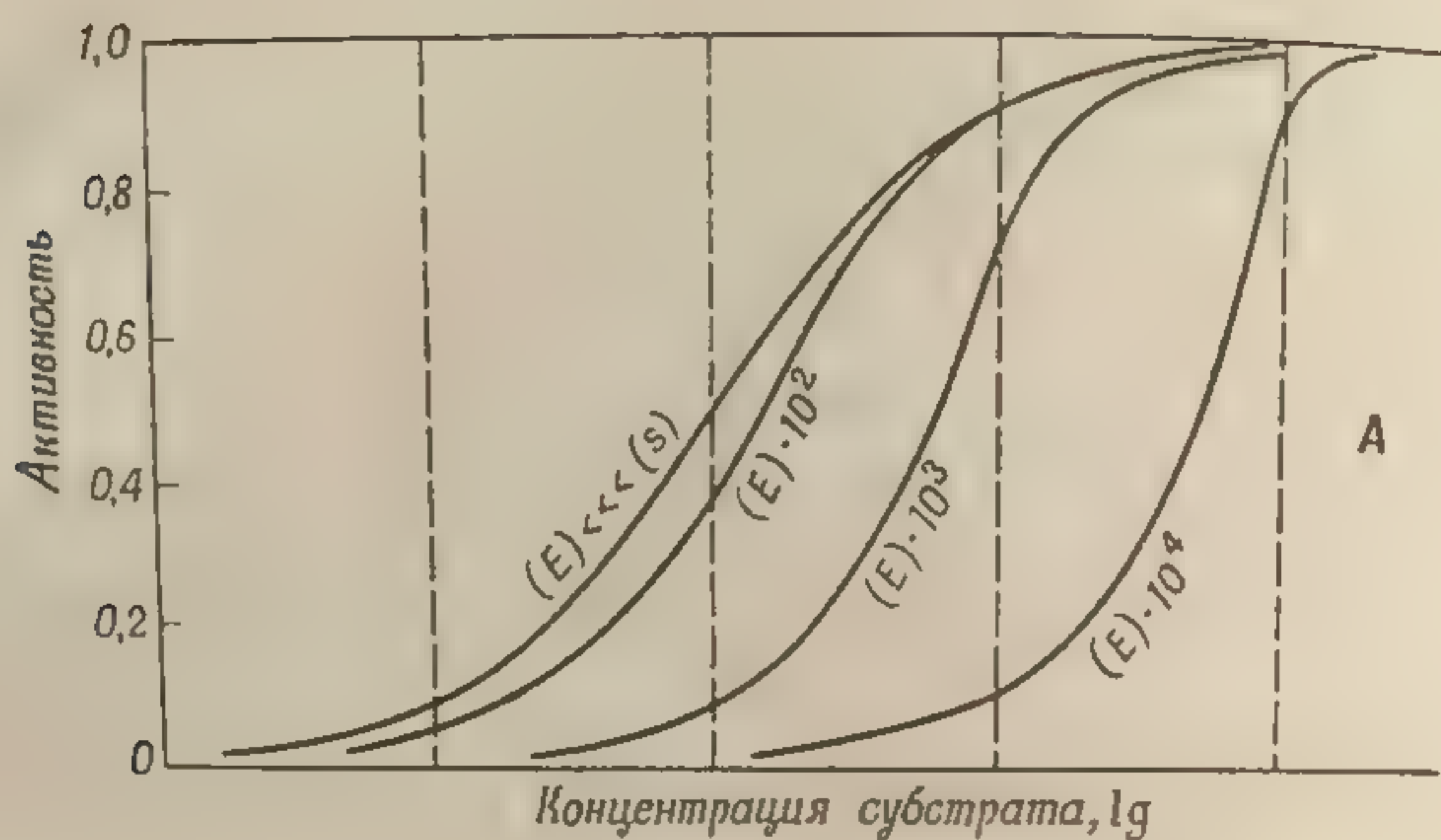
Если принять, что
рым членом можно
нам уравнение (2)
очевидно, что скор
трации субстрата,
связанных констант
связаны со «средств
рой фермент спосо
Уравнения (7), (8)
Предельная кривая
ше, чем $[S]$, по су
Михаэлиса и Ментен
ность не зависит от
 $[E] \cdot 10^3$ и $[E] \cdot 10^4$
циальной активност
почти идентичными
изменениях $\lg [E]$
какова связь между
реакции. Можно об
или $[S]$ могут приве
количество раз от 0
системы, которое пр
ство такой ферментн
стрируется на фиг. 3
при условиях, обозн
100 раз, скорость р
можно было бы ожи
заменить $[S] \cdot 10^{-2}$ и
рости реакции буде
Предшествующее
реда системы, ката
ясностью показало, т
лени, несомненно, т
зм и в качестве ин
реакциям *in vivo*. Ос
ностей биохимической
нений в концентра
также и от существ
разведения (фиг. 33)
точности зрения. Это зн
водил к следующему
наться проп...

Уравнение (7) или (8) может быть, конечно, преобразовано путем замены членов уравнения равенствами, указанными выше:

$$[S] = K_s \frac{v/V_{\max.}}{(1 - [v/V_{\max.}])} + \frac{v}{V_{\max.}} [E]. \quad (9)$$

Если принять, что $[E]$ ничтожно мало по сравнению с $[S]$, то вторым членом можно пренебречь и перестановка даст уже известное нам уравнение (2) Михаэлиса и Ментена. Из уравнения (9) сразу же очевидно, что скорость реакции v зависит одновременно от концентрации субстрата, концентрации фермента и свойств фермента, описываемых константами K_s и $V_{\max.}$ Эти две константы, очевидно, связаны со «сродством» фермента к субстрату и с быстротой, с которой фермент способен превращать субстрат в продукты реакции. Уравнения (7), (8) и (9) представлены графически на фиг. 33, А, Б. Предельная кривая для $[E] \ll [S]$ на рис. 33, А, где $[E]$ много меньше, чем $[S]$, по существу, та же, что и получаемая из уравнения Михаэлиса и Ментена (см. фиг. 32). В этом районе парциальная активность не зависит от концентрации фермента. Кривые для $[E] \cdot 10^2$, $[E] \cdot 10^3$ и $[E] \cdot 10^4$ показывают увеличивающуюся зависимость парциальной активности от $[E]$, пока $a = [S]/[E]$ и кривые становятся почти идентичными по форме и одинаково смещаются при равных изменениях $\lg [E]$ или $[S]$. Кривые рис. 33, Б ясно показывают, какова связь между $[E]$, $[S]$ и скоростями образования продуктов реакции. Можно обнаружить, что десятикратные изменения в $[E]$ или $[S]$ могут привести к изменениям в скорости реакции в любое количество раз от 0 до десятикратного в зависимости от состояния системы, которое предшествует изменению. Связанное с этим свойство такой ферментной системы — эффект разведения — также иллюстрируется на фиг. 33, Б. Если ферментная система, действующая при условиях, обозначенных на фигуре квадратами, разводится в 100 раз, скорость реакции будет уменьшаться, но не в 100, как можно было бы ожидать, а почти в 1000 раз. С другой стороны, если заменить $[S] \cdot 10^{-2}$ исходным более высоким $[S]$, то изменение скорости реакции будет пропорционально разведению.

Предшествующее обсуждение касалось анализа простейшего рода системы, катализируемой ферментами, но оно с достаточной ясностью показало те принципы, которые в количественном отношении, несомненно, приложимы к несколько более сложным системам и в качественном отношении, вероятно, — к биохимическим реакциям *in vivo*. Особенно следует подчеркнуть тот факт, что скорость биохимической реакции зависит не только от степени изменений в концентрации компонента, вступающего в реакцию, но также и от существующего рабочего состояния системы. Эффект разведения (фиг. 33) служит наглядным примером этой важной точки зрения. Это значит, что, если цитоплазма живой клетки может становиться разведенной (или концентрированной), в отношении воды следует ожидать, что некоторые скорости реакций будут изменяться пропорционально разведению, а другие нет. Результат будет



Ф и г. 33. Графическое изображение уравнения Штрауса—Гольдштейна.

А — зависимость скорости реакции от концентрации субстрата при различных относительных концентрациях фермента. По оси ординат отложена активность $a = \frac{v}{V_{\max}}$, а по оси абсцисс концентрация субстрата в относительных единицах дана в логарифмической шкале. Предельная кривая, где $[E]$ значительно меньше чем $[S]$, соответствует кривым фиг. 32, Б; Б — зависимость скорости реакции от концентрации фермента при различных концентрациях субстрата. По оси ординат в логарифмической шкале отложено произведение концентрации фермента на концентрацию субстрата ($[ES] = a[E]$), что пропорционально скорости реакции; по оси абсцисс концентрация фермента в относительных единицах дана в логарифмической шкале. □ — исходное состояние системы, ○ — ожидаемое состояние при разведении системы в 100 раз и △ — действительное состояние системы после разведения, которое показывает, что величина вызываемого изменения эффекта зависит от предшествующего изменения в состоянии системы. В качестве примера: если исходное положение было $[S] \cdot 10^{-2}$, то изменение скорости реакции будет пропорционально разведению.

зависеть от относительных концентраций компонентов, вступая в такие процессы, требующие перестройки клеточных компонентов с одной стороны и над простыми изометрическими рассматриваться.

Подавление

Подавление как обычное и хорошо известное явление при описании действия ферментативных реакций. Скорость ионизации CN^- , N_3^- , S^- , AsO_4^{3-} , Hg^{2+} обусловлена наличием ингибиторов в системе. Подобные ингибиторы (например, иодиды) действуют как ингибиторы *in vivo*. Эта область действия ингибиторов, благодаря предположению о влиянии действия субстрата на структуру системы. Таким образом, изменение химического вещества. В результате действия ингибитора в качестве ингибитора число аналогов ингибитора в обиходных условиях по своей специфическому воздействию, каковы метаболиты, эти упомянутые вещества и не функционируют, однако чрезвычайно ингибиторов встречаются почти все вещества, действующие как ингибиторы на комплексы, как антибиотические защитные вещества. Хорошие примеры

зависеть от относительных концентраций и специфических свойств компонентов, вступающих в каждую реакцию. По этим соображениям такие простые изменения, как разведение, вызывают значительную перестройку в существующем балансе реакций и концентраций клеточных компонентов. Эти заключения касаются лишь качественной стороны вопроса, так как они основаны на наблюдениях над простыми изолированными системами. Тем не менее они будут рассматриваться далее при обсуждении более сложных систем.

Подавление действия ферментов и ингибиторы

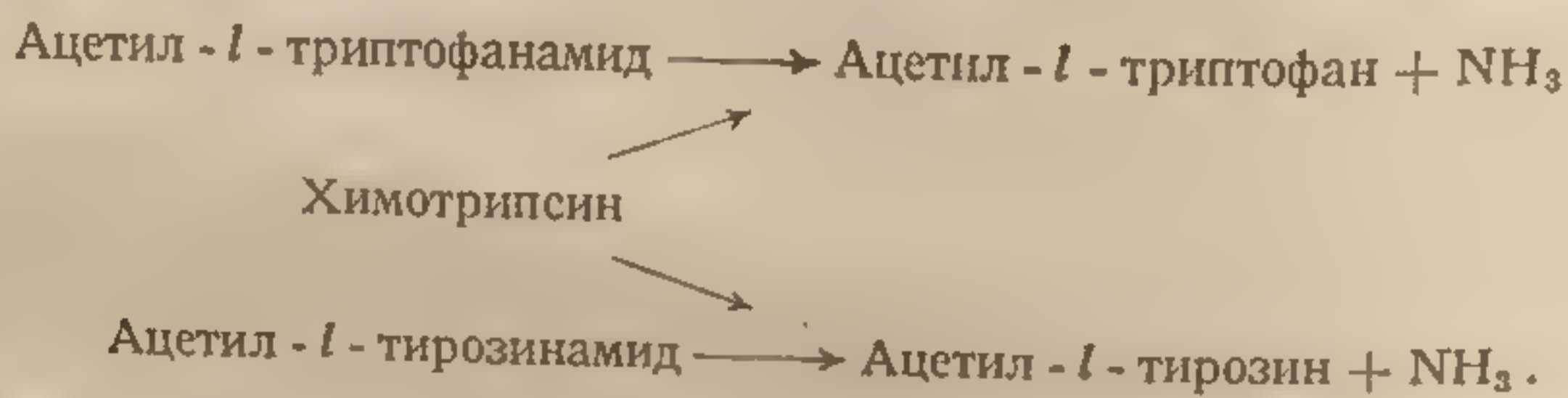
Подавление катализируемых ферментами реакций — весьма обычное и хорошо известное явление, которое широко используется при описании действия ферментов, а также в исследованиях ферментативных реакций в сложных системах и цельных тканях. Токсичность ионов неорганических соединений, как например F^- , CN^- , N_3^- , S^{2-} , AsO_4^{3-} , и катионов тяжелых металлов (Cu^{++} , Ag^+ и Hg^{++}) обусловлена, по крайней мере частично, подавлением ферментных систем. Подобно этому, большое число органических веществ (например, иодацетат, малонат, различные алкалоиды и т. п.) действуют как ингибиторы ферментных систем как *in vitro*, так и *in vivo*. Эта область исследований чрезвычайно расширилась благодаря предположению Филдса [703] и Вудса [702] о том, что подавляющее действие сульфамидов обусловлено сходством их химической структуры с витамином В — *p*-аминобензойной кислотой. Таким образом, между ферментом, необходимым для роста клеток, и химическим веществом, подавляющим его, существует конкуренция. В результате этих наблюдений было приготовлено и испытано в качестве ингибиторов и химиотерапевтических агентов очень большое число аналогов нормальных метаболитов. Вряд ли могут быть сомнения в обоснованности применяемого принципа, что вещества, близкие по своей структуре, действуют как антагонисты в отношении специфического влияния ферментов. С другой стороны, невозможно предсказать, каковы должны быть структурные изменения нормального метаболита, чтобы получить эффективный антагонист.

Эти упомянутые выше вещества большей частью не обнаруживаются и не функционируют в качестве ингибиторов в живых системах, однако чрезвычайно важно отметить, что очень большое число ингибиторов встречается в естественных условиях. Действительно, почти все вещества, возникающие в организме, могут, вероятно, действовать как ингибиторы в данном или другом организме при некотором комплексе условий. Внимание обычно концентрировалось на наиболее высоко активных ингибирующих соединениях, таких, как антибиотики, гормоны и антитела или другие специфические защитные агенты.

Хорошие примеры ингибиторов последнего типа мы находим в исследовании по выделению из ткани поджелудочной железы белка, препятствующего действию трипсина [457], и в ранее опубликован-

ной работе с круглым червем *Ascaris*, паразитирующим в кишечнике. Было обнаружено, что экстракты из червя подавляют действие пепсина и трипсина, находящихся в кишечном тракте хозяина. Экстракты не подавляют, однако, действия протеолитического фермента папаина, и живые черви могут быть переварены с помощью этого фермента, имеющего скорее растительное, чем животное происхождение. Встречающиеся в естественных условиях ингибиторы, подобные упомянутым выше, несомненно, играют исключительно важную роль в процессах регуляции обмена веществ, и некоторым из них будет уделено внимание в последующих обсуждениях. Однако наиболее удобно для рассмотрения явление подавления в множественных субстратах.

Хорошо известно, что многие ферменты катализируют определенный тип реакций и, таким образом, они действуют на ряд встречающихся в естественных условиях веществ, которые часто находятся в одной и той же ткани. В качестве примеров можно назвать амилазы, фосфатазы, протеолитические ферменты, трансаминазы, гексокиназы и многие другие ферменты. В случае одновременного присутствия двух или более субстратов при наличии фермента, действующего на тот и другой субстрат, каждый из них может служить ингибитором для реакции, в которой участвует другой. Хорошую иллюстрацию этих фактов можно почерпнуть из работы Фостера и Ниемана [182], которые изучали кинетику одновременного гидролиза ацетил-*l*-триптофанамида и ацетил-*l*-тирозиламида в присутствии кристаллического химотрипсина. Протекающие при этом реакции приведены ниже.



В этом случае оба субстрата, очевидно, соединяются с ферментом одинаковым способом и имеется количественная зависимость скорости каждой реакции от относительной концентрации субстратов и их относительного сродства к ферменту. (Некоторые данные по кинетике подавления рассмотрены в следующем разделе.)

Не известно, какую долю составляет подавление при наличии множественных субстратов в нормальном балансе обмена веществ, но имеются основания полагать, что подобные явления встречаются *in vivo* и что они служат для регуляции скоростей многих реакций.

Кинетика подавления

В соответствии с этой точкой зрения уместно рассмотреть количественную сторону вопроса о влиянии ингибиторов на скорости относительно простых реакций, катализируемых ферментами. В обзорах

Вильсона [69]
которые не бу-
ются на три о-
1. Конкури-
активную груп-

2. Неконку-
ферментом неза-
поверхности фе-

3. Конкурен-
сом фермент —
отдельности

Эта несколь-
возможности, н-
ментальных дан-
лировки Гольд-
мы должны ра-
[S], фермента [I]
уравнения (8)

и, кроме того,

Объединив эти
произведя соотно-
получим следую-

$$I' = \left\{ (S' - \right.$$

Здесь

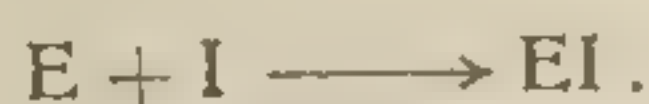
$$I' = (I)/K_i$$

и уравнение о-
K_s, K_i, и V_{max}.
быть упрощено
рые члены стан-
избытком ингиб

При другой кр-
избытке по сн-
сокн-

Вильсона [697] и Мак-Элроя [392] приводится много деталей, которые не будут представлены здесь. Ингибиторы классифицируются на три основные категории простых изолированных систем.

1. Конкурирующие: ингибитор конкурирует с субстратом за активную группу фермента



2. Неконкурирующие: ингибитор и субстрат соединяются с ферментом независимо друг от друга в различных положениях на поверхности фермента



3. Конкуренция отсутствует: ингибитор соединяется с комплексом фермент — субстрат, но не с каждым из этих компонентов в отдельности



Эта несколько произвольная классификация не охватывает все возможности, но она соответствует большому количеству экспериментальных данных. С другой стороны, исходя из основной формулировки Гольдштейна и учитывая только конкурентное подавление, мы должны рассматривать одновременно концентрации субстрата [S], фермента [E] и ингибитора [I]. Таким образом, как в выводе уравнения (8)

$$K_s = \frac{[E_f] [S_f]}{[ES]}$$

и, кроме того,

$$K_i = \frac{[E_f] [I_f]}{[EI]}.$$

Объединив эти два уравнения с помощью общего члена $[E_f]$ и произведя соответствующие подстановки, как описывалось ранее, получим следующее общее уравнение:

$$I' = \left\{ (S' - a E'_s) \left(\frac{1-a}{a} \right) - 1 \right\} + \left\{ (1-a) \left(1 + \frac{1}{S' - a E'_s} \right) \right\} E'_i. \quad (10)$$

Здесь

$$I' = (I)/K_i; S' = [S]/K_s; a = v/V_{\max}; E'_s = [E]/K_s \text{ и } E'_i = [E]/K_i$$

и уравнение описывает количественные отношения между E, S, K_s , K_i , v и V_{\max} . В экспериментальной практике уравнение может быть упрощено посредством создания условий, при которых некоторые члены становятся ничтожно малыми. Например, в системе с избытком ингибиторов над субстратом уравнение приобретает вид

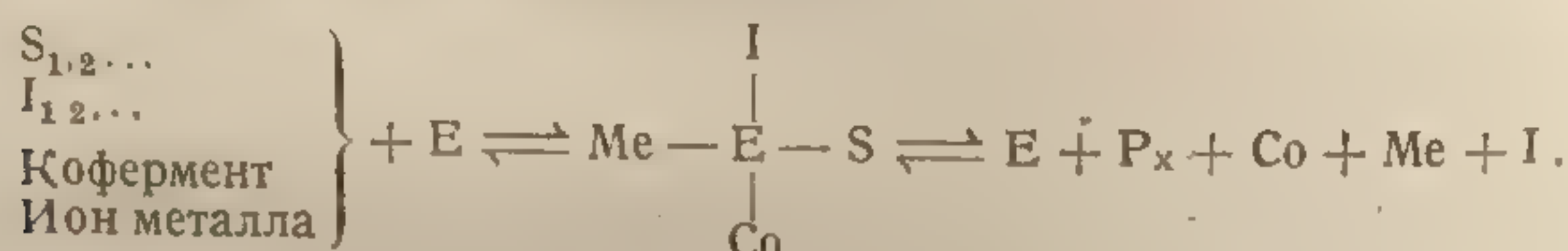
$$I' = \left\{ (S' - a E'_s) \left(\frac{1-a}{a} \right) \right\} - 1.$$

При другой крайности, где фермент присутствует в большом избытке по сравнению с субстратом и ингибитором, уравнение (10) сокращается до

$$I' = (1-a) E'_i.$$

При этих условиях имеется более чем достаточно фермента для соединения как с субстратом, так и с ингибитором и конкурирующее подавление не существует.

Общее уравнение (10), которое описывает конкурирующее подавление в широких пределах значений переменных, аналогично основному уравнению (8), где $[I]$ и K_i не включены. Дополнительные усложнения, возникающие при введении этой переменной и постоянной, не изменяют уже изложенного принципа о том, что величина изменения скорости реакции зависит не только от величины изменения одной из переменных $[S]$, $[I]$ или $[E]$, но также от специфических ранее существовавших отношений между этими переменными и константами K_s и K_i . Эффект разведения и другие количественные стороны проблемы обсуждались Гольдштейном и не будут разбираться здесь, так как большая часть систем *in vivo* слишком сложна для количественного анализа с применением уравнения (10). Например, некоторые реакции включают взаимодействие с рядом дополнительных компонентов:



В этом примере каждый из реагентов будет иметь характерное сродство к ферменту, как и в простейшем случае. Вероятная сложность некоторых реакций не обязательно повлечет за собой введение каких-либо новых принципов или идей. Ясно, однако, что переменные и комбинации переменных, которые могут влиять на скорость реакции, будут очень сильно возрастать. Таким образом, пути изменения скорости реакции в этом случае могут быть значительно более разнообразными, чем в простых системах.

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ КОМПЛЕКСЫ

Очевидно, состояние самого фермента очень важно для определения скоростей реакций. Экспериментальные данные показали, что в клетках, помимо ядра, содержатся другие структурные компоненты, в которых локализованы многие ферменты. Более того, представляется весьма вероятным, что ферменты распределены внутри этих комплексов упорядоченным образом. Это позволяет считать, очевидно, что в клетке существует морфология на молекулярном уровне, которая, быть может, вполне равноценна морфологии на клеточном уровне. Исходя из этого, следует ожидать, что генетические факторы контролируют не только возможность существования различного рода внутриклеточных ферментов, но также и внутриклеточное распределение ферментов по отношению друг к другу. Подобные факторы следовало бы принимать во внимание при изучении кинетики реакций, протекающих в сложных системах, выразив их в понятиях концентрации ферментов, субстратов и т. п.,

хотя до сих пор
видно, что одна
связана с более
и механизма дей

Внутриклеточ
II, где было у
тельца в клетк

стиды растений
могут быть выде
и более или м

Хогбум, Шней
изящных спосо

млекопитающих
ется немедленно
2° она гомоген

ядра, неразруш
центрифугиров

Вторая фракци
митохондрии (с

рования в тече
фракция, содер

сомы (60—150
рования в цент

фракция — на
менты. Действ

хондрии заклю
даже несмотря
процессе выде

Имеется неско
ности компле

области. Прис
клетках едва

возникает воп
друг к другу?

системы? Како
организованны

Будет пока
основано на ц

материал кажд
образом, что м

родными, кажд
много различн

хондрий и мик

Некоторые
изучения этих

Знаками «п

по отношению

Знак

хотя до сих пор подобный подход к проблеме неосуществим. Очевидно, что одна из очень важных проблем современной биохимии связана с более полным установлением функционального значения и механизма действия организованных ферментных систем в клетках.

Внутриклеточная организация была кратко рассмотрена в гл. II, где было указано, что определенные обнаружимые частицы и тельца в клетке, такие, как ядра, митохондрии, микросомы и пластиды растений, обладают ферментативной активностью. Все они могут быть выделены из цитоплазмы посредством центрифугирования и более или менее удовлетворительно отделены друг от друга. Хогебум, Шнейдер и Палад [283] предложили один из наиболее изящных способов разделения внутриклеточных частиц из тканей млекопитающих. Принцип его состоит в следующем: ткань удаляется немедленно после смерти животного, и после охлаждения ниже 2° она гомогенизируется в 0,88 М растворе сахарозы. Клеточные ядра, неразрушенные клетки и другие остатки ткани удаляются центрифугированием в центробежном поле в 600 g в течение 10 мин. Вторая фракция, содержащая большие клеточные гранулы, или митохондрии (0,5—2 μ в диаметре), получалась путем центрифугирования в течение 20 мин. в центробежном поле в 24 000 g. Третья фракция, содержащая ультрамикроскопические частицы или микросомы (60—150 m μ в диаметре), получается посредством центрифугирования в центробежном поле в 40 000 g, в то время как четвертая фракция — надосадочная жидкость, содержит растворимые ферменты. Действительно, имеются доказательства того, что митохондрии заключены в хрупкую полупроницаемую мембрану, и даже несмотря на то, что они имеют тенденцию к агглютинации в процессе выделения, они не являются простыми коацерватами. Имеется несколько вопросов относительно ферментативной активности комплексов, которые наиболее существенны в генетической области. Присутствие подобных комплексов в самых разнообразных клетках едва ли вызывает сомнение. Поскольку они существуют, возникает вопрос о том, как распределены ферменты по отношению друг к другу? Несут ли различные частицы разные функциональные системы? Каков механизм контроля над образованием и сохранением организованных частиц со стороны единиц наследственности?

Будет показано, что разделение цитоплазматических частиц основано на цитологических, а не на химических свойствах. Хотя материал каждой фракции частиц и может быть приготовлен таким образом, что микроскопически они будут выглядеть вполне однородными, каждая из фракций может содержать примесь другой, и много различных типов частиц могут присутствовать среди митохондрий и микросом.

Некоторые приблизительные данные, полученные в результате изучения этих фракций, приведены в табл. 14.

Знаками «плюс» указана значительная концентрация вещества по отношению к другим фракциям и к общей концентрации веществ. Знак «минус» не обязательно означает полное отсутствие вещества,

но лишь относительно низкую его концентрацию или активность. Таким образом, эти данные, большая часть которых получена при изучении тканей млекопитающих, помещены лишь для того, чтобы показать общее распределение веществ. Некоторые количественные данные, приведенные Шнейдером [542] и Шнейдером и Поттером [545], представлены в табл. 15 и 16.

Примерный состав клеточных фракций

Таблица 14

Вещество	Фракции			
	ядра	мито-хондрии	микро-сомы	надоса-дочная жид-кость
Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)	+++	—	—	—
Рибонуклеиновая кислота (РНК)	+	±	++	++
Липопротеин	?	++	+	?
Цитрохром с	—	++	—	—
Цитохромоксидаза	+	++	—	—
Цитохромредуктаза	—	—	++	—
Дегидраза янтарной кислоты	—	++	—	—
Оксидаза щавелевой кислоты	—	++	—	—
Оксидаза аминокислоты	—	++	—	—
Тирозиназа	—	++	—	—
Аргиназа	++	—	—	—
Уриказа	++	—	—	—
Щелочная фосфатаза	+++	—	—	—
Аденозинтрифосфатаза	—	—	++	—
Эстераза	++	—	++	—
Каталаза	+	—	—	++
Карбоксилаза	—	—	—	++
Дегидраза молочной кислоты	+	—	—	+
Амилаза	—	+++	—	—
Система цикла Кребса	—	+++	—	—
Гликолитическая система	—	—	—	+++
Система окисления жирных кислот ..	—	+++	—	++
Система синтеза белков	+	+	++	+

Исходя из данных табл. 16 следует отметить, что, хотя фракция может обладать крайне низкой ферментативной активностью, она может оказывать очень сильное влияние в отношении повышения активности другой фракции. Как показано в табл. 14, для того чтобы получить окисление глюкозы путем гликолиза и через цикл Кребса, необходимо воссоединить надосадочную жидкость с митохондриями.

С целью подробного рассмотрения комплексной системы следует обратиться к одной из наиболее известных систем, полученной и исследованной Грином, Лумисом и Ауэрбах [225] и использованной также Ленингером с сотрудниками [357]. Эти исследователи при- готовили ферментные комплексы из нескольких тканей кролика посредством центрифугирования в солевых растворах. Согласно

Распреде-
ле

Тканевая
фракция

Исходный
гомогенат
Ядерная
фракция
Митохондри-
альная фракц-
ия
Нефракцион-
ированный
осадок ..

¹ Активн-
сырой ткани.
² Активн-
на 100 мг сыро-
³ Рассчит

Активность

Тканевая

Гомогенат
Nw
Mw
S₁
Nw + Mw
Nw + S₁
Mw + S₁
Nw + Mw + S₁

Таблица 15

Распределение ферментов, фосфорсодержащих соединений, белкового азота и сухого материала во фракциях гомогената печени крысы (средние значения) [545]

Тканевая фракция	Ферментативная активность			Фосфор, $\mu\text{г}$ на 100 мг свежей ткани						Белковый азот, $\mu\text{г}$ на 100 мг сырого веса ткани	Сухой материал, $\mu\text{г}$ на 100 мг сырого веса ткани
	оксидазы янтарной кислоты ¹	цитохромоксидаза ¹	аденозинтрифосфатаза ²	ДНК ³	РНК ³	нуклеиновой кислоты	кислоторастворимый	липидный	белковый		
Исходный гомогенат ..	383	1012	865	22,6	65,2	95	125	155	40,2	1970	31,9
Ядерная фракция ...	25,4	54,6	231	23,4	4,9	27,2	4,8	19	6,1	197	3,3
Митохондриальная фракция	289	748	416		11,4	16	4,9	42,1	11,4	434	5,7
Нефракционированный осадок	45,5	147	257		47,8	61,5	115	95	19,7	1250	23,3

¹ Активности выражены в микролитрах O_2 , поглощенных за 10 мин. в расчете на 100 мг сырой ткани.

² Активности выражены в микрограммах фосфора, освобождаемого за 15 мин. в расчете на 100 мг сырой ткани.

³ Рассчитано по определению пентоз.

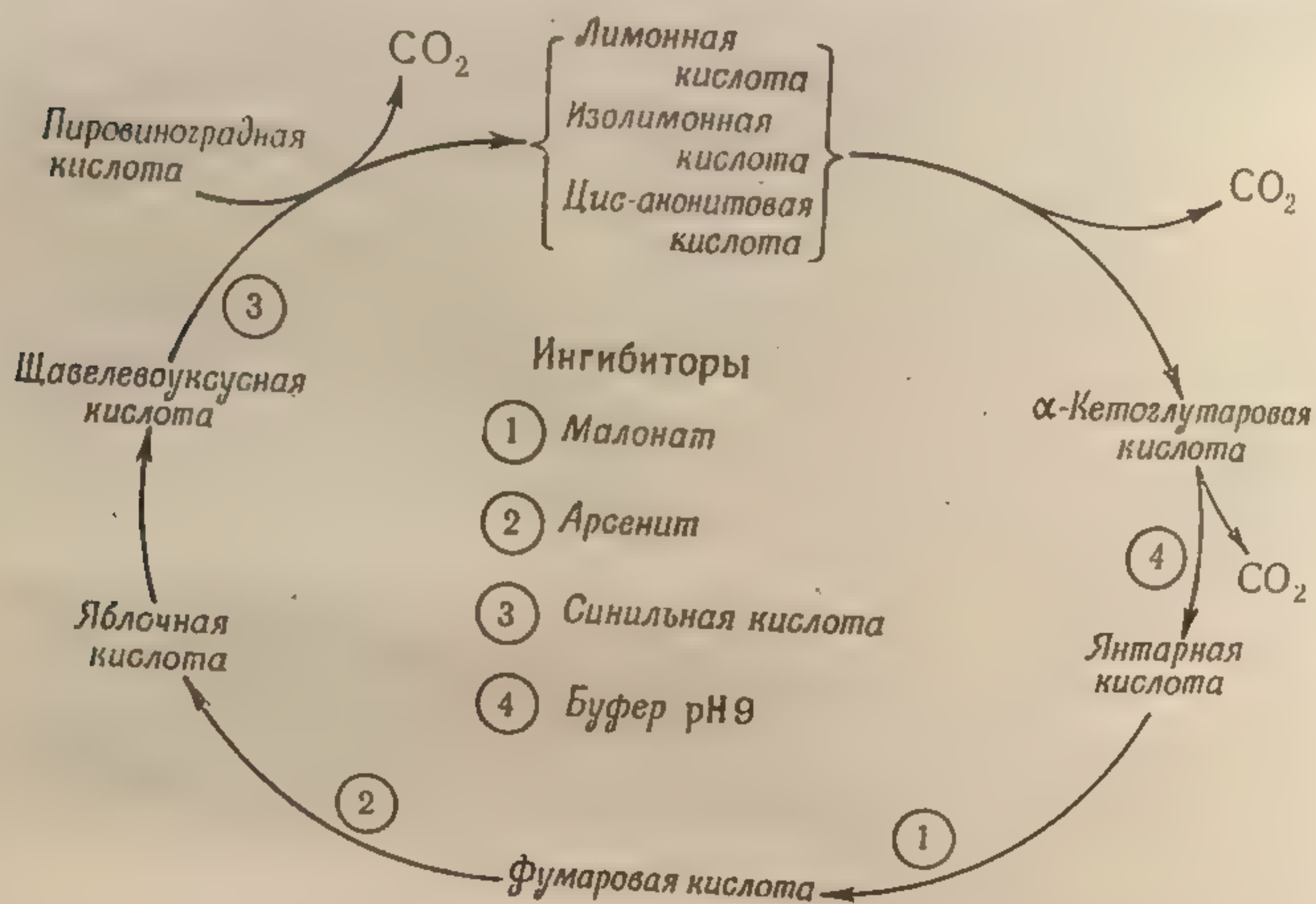
Таблица 16

Активность оксидазы щавелевой кислоты во фракциях почки крысы* [545]

Тканевая фракция	Активность оксидазы щавелевой кислоты			
	3 часа спустя после гибели крысы		6,5 часов спустя после гибели крысы	
	общее количество O_2 за 10 мин., $\mu\text{л}$	доля от гомогената, %	общее количество O_2 за 10 мин., $\mu\text{л}$	доля от гомогената, %
Гомогенат	226	(100)	187	(100)
Nw	18,0	8,0		
Mw	73,0	32,3	65,0	34,8
S ₁	2,2	1,0		
Nw + Mw	141	62,4	115	61,5
Nw + S ₁	13,0	5,8		
Mw + S ₁	149	66,0	42	22,4
Nw + Mw + S ₁	193	85,5		

*Nw — ядра; Mw — митохондрии; S₁ — растворимая фракция.

Шнейдеру и Поттеру [545], эти препараты, названные Грином и другими циклофоразной системой, содержат смесь клеточных частиц. Грин и сотрудники показали, что препарат цитоплазматических частиц может полностью окислить пировиноградную кислоту до образования CO_2 и воды в присутствии кислорода или другого окислителя. Кроме того, используя ингибиторы специфических



Фиг. 34. Схема окисления пировиноградной кислоты ферментным комплексом (система циклофоразы) в присутствии кислорода. Указаны главные промежуточные вещества и ингибиторы, которые действуют на систему специфическим образом. Ниже приведены ферменты и другие вещества, для которых установлена связь с циклофоразной системой:

Ферменты

Дегидраза яблочной кислоты
Дегидраза глутаминовой кислоты
Дегидраза изолимонной кислоты
Дегидраза янтарной кислоты
Дегидраза α -кетоглутаровой кислоты
Дегидраза β -оксимасляной кислоты
Аденозинтрифосфатаза
Цитохромы

Коферменты и другие вещества

Кофермент I (ДПН)
Кофермент II (ТПН)
Дифосфотиамин
Аденозинтрифосфат (АТФ)
Флавинадениндинуклеотид
Кофермент А, содержащий пантотеновую кислоту

Требуемые добавки

Субстрат, любой компонент цикла
Кислород
Аденозин-5-фосфат (АМФ)
 Mg^{++}
 PO_4^{--}

реакций цикла Кребса (фиг. 34) было показано, что этот процесс осуществляется через ряд отдельных реакций этого цикла [225]. Другие необходимые компоненты цикла также представлены на этой фигуре. Недавно было показано, что аналогичные описанным выше препараты клеточных частиц содержат дополнительные ферменты или системы, такие, как оксидаза щавелевоуксусной кислоты, аденозинтрифосфатаза, амилаза и системы, окисляющие жирные

кислоты. Лени
провели больш
Вся активност

Открывая п
прочтения в 1
ясной форме в
ное значение п
реакциям. Шо
состояние комп
некоторые дан
что все компо
структурные, п
состоянии быст
цепция была
частности Борс
ных взглядов,
никами и мно
биохимических
ческом мышлен
щаемые из окру
риваться как т
гию для подд
структур. Скор
поненты пищи
ными молекула
которые, окисл
непосредственн
неизменяющих
роста скорости
материалов в
процессах всегд
ляют энергию и
система взаим
которая регули
этим особое зна
вопросу о регул
Чтобы сдела
о скоростях вза
ных работах, бу
отправного пун
следует напомн
действительно о
скорость рост
клетки

кислоты. Ленингер [357] и Поттер [112, 364, 493] с сотрудниками провели большие исследования системы окисления жирных кислот. Вся активность оказалась связанной в основном с митохондриями.

ДИНАМИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ

Открывая первую серию из трех лекций, приготовленных для прочтения в 1940 г., профессор Р. Шонгеймер [547] в простой и ясной форме выразил основные принципы, которые имеют огромное значение при рассмотрении отношений генов к биохимическим реакциям. Шонгеймер говорил: «Общее название «Динамическое состояние компонентов тела» указывает на попытку рассмотреть . . . некоторые данные современной биохимии, которые говорят о том, что все компоненты живой материи, как функциональные, так и структурные, простого или сложного состава постоянно находятся в состоянии быстрого течения». Шонгеймер подчеркивал, что эта концепция была предвосхищена несколькими исследователями, в частности Борсуком и Кейли [59]. Результатом этих ранее высказанных взглядов, а также использования Шонгеймером, его сотрудниками и многочисленными последователями изотопов в качестве биохимических индикаторов был значительный поворот в биохимическом мышлении. Стало ясно, что химические компоненты, поглощаемые из окружающей организм среды, не могут больше рассматриваться как топливо, сгорание которого только поставляет энергию для поддержания относительно неизменных органических структур. Скорее становится очевидным то, что молекулярные компоненты пищи находятся в состоянии постоянного обмена со сходными молекулярными компонентами клеток и что особые молекулы, которые, окисляясь, поставляют энергию, могут поступать как непосредственно из окружающей среды, так и, по-видимому, из неизменяющихся структур организма. В течение периода быстрого роста скорости прямого окисления и прямого внедрения пищевых материалов в ткани могут значительно превосходить скорость межклеточного обмена. Несмотря на это, обратимые и циклические процессы всегда могут иметь место внутри систем, которые поставляют энергию и строят вещество ткани. Это постоянно изменяющаяся система взаимосвязанных, обратимых и циклических процессов, которая регулируется единицами наследственности, и в связи с этим особое значение в биохимической части проблемы придается вопросу о регуляции скоростей реакции.

Чтобы сделать ясным значение этого вопроса и получить данные о скоростях взаимного обмена, которые имеются в экспериментальных работах, будет рассмотрен ряд примеров. В качестве основного отправного пункта для оценки скоростей межклеточного обмена следует напомнить, что частота клеточных делений (одно за час) действительно очень велика. Обычно частота клеточных делений и скорость роста значительно ниже. Например, не наблюдалось, чтобы клетки мозговой ткани или красные кровяные клетки, включая

ядерные эритроциты кур, подвергались делению после достижения зрелости, хотя в течение длительного периода времени в них протекают чрезвычайно разнообразные процессы обмена веществ. Некоторые наблюдения можно было сделать относительно пределов концентраций и кругооборота ряда ферментов. Ферменты присутствуют в клетках в таких высоких концентрациях, как 0,1%, и некоторые имеют такую большую частоту актов действия, как 5 000 000 в 1 мин., т. е. $5 \cdot 10^6$ молекул субстрата распадается за этот период при действии одной молекулы фермента. Число актов порядка 100, возможно, более обычно. Нет оснований, чтобы установить четкий нижний предел значимости для концентрации фермента или числа его актов. Одна молекула фермента с крайне низким числом актов может выполнять очень важную функцию в процессе обмена веществ.

Проницаемость мембран

Хевеши [277] разбирает большое число данных относительно использования радиоактивных индикаторов для измерения поглощения веществ клетками, а также кругооборота или скоростей обмена этих веществ после того, как они проникнут в клетку. Обычно абсорбируемые вещества часто поглощаются и претерпевают процесс обмена очень быстро. Например, как показано Кальвином и Бенсоном [86], 5-секундное воздействие света в присутствии $C^{14}O_2$ на культуру зеленой водоросли *Chlorella* приводит к образованию по крайней мере восьми радиоактивных веществ в измеримых количествах. Первое вещество, которое было определено, оказалось фосфоглицериновой кислотой. При 90-секундном воздействии света число меченых соединений по крайней мере удваивается и в число таких веществ попадает сахароза. Является ли в этом случае поглощение CO_2 процессом ферментативным или диффузионным, установить невозможно. Само по себе поглощение может быть серьезным ограничивающим фактором даже при малых размерах молекул или ионов, и это ограничение распространяется на все эксперименты по скорости оборота *in vivo*. Превосходный пример, показывающий скорость поглощения и обмена веществ у животных, мы находим в исследованиях Борсука, Дизи, Хааген-Смита, Кейли и Леви [64]. В экспериментах, где мышам вводили глицин, гистидин, лейцин и лизин, меченные C^{14} , было найдено, что в сущности все аминокислоты переходят из крови в ткани за 10 мин. Спустя 30 мин. 18—47% меченых соединений включаются в белки внутренних органов и через час аминокислоты появляются в белках плазмы.

В приведенных выше двух примерах включаемые вещества — простые молекулы, которые обычно поглощаются тканями из окружающей среды. Даже на скорость проникновения веществ подобного рода могут в значительной мере влиять внешние или внутренние изменения. Например, органические кислоты, такие, как уксусная или никотиновая, будут проходить через клеточные мембраны со значительно большей скоростью, находясь в неионизированной форме (в

кислой среде).
механизмы про-
соединений с ве-
раны, и нельзя
через них. Как
несомненно, ле-
методов исследо-

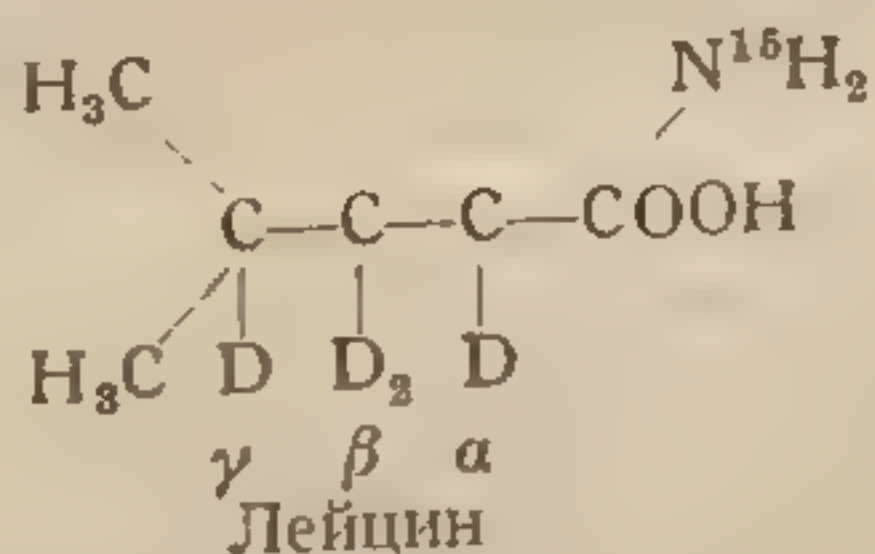
Как уже упо-
мыми изотопами
монстрировало
атомов азота и
Эти результаты
говоря, эти ато-
мических соеди-
вещества, как N
свою идентично-
левают непрерыв-
от их биохимич-
они вступают. П-
в себя биологич-
мена атомов: с
иметь место. Пр-
и D в биологиче-
и Риттенберга [1
помощью N^{15} и
следующей стру-

Затем мечен-
обезглавливали
Последние подв-
выделялся в чис-
D и N^{15} — факт, у-
кислотами, соде-
белков. Для опр-
жения провод-
представлены в
Эти данные в-
ций об-

кислой среде). Однако совершенно очевидно, что имеются особые механизмы прохождения многих простых и даже очень сложных соединений с высоким молекулярным весом через клеточные мембраны, и нельзя предсказать, какие из этих веществ будут проникать через них. Как будет видно из дальнейшего изложения, это явление, несомненно, лежит в основе серьезных ограничений для многих методов исследования генетического контроля обмена веществ.

Метаболический фонд

Как уже упоминалось, ранее проведенное исследование с мечеными изотопами N^{15} (азот¹⁵) и D (дейтерий) окончательно продемонстрировало существование быстрого биохимического обмена атомов азота и водорода между различными веществами клетки. Эти результаты наводят на мысль о «метаболическом фонде»; иначе говоря, эти атомы присоединяются и отщепляются от ряда химических соединений через некоторые обычные промежуточные вещества, как NH_3 или H_2O . Если это верно, то атомы утрачивают свою идентичность с частью данной молекулы любого рода и претерпевают непрерывное перераспределение со скоростями, зависящими от их биохимического окружения и химических связей, в которые они вступают. Представление о метаболическом фонде не включает в себя биологической стороны или механизма промежуточного обмена атомов: оно только констатирует, что обмен атомов может иметь место. Превосходный пример одновременного применения N^{15} и D в биологическом эксперименте мы находим в опытах Спринсона и Риттенберга [588]. Аминокислота лейцин была синтезирована с помощью N^{15} и D вместо N^{14} и H, причем получилось соединение следующей структуры:



Затем меченая аминокислота скармливалась крысам, животные обезглавливались и из различных их тканей экстрагировались белки. Последние подвергались гидролизу, и содержащийся в них лейцин выделялся в чистом виде. Было найдено, что этот лейцин содержит D и N^{15} — факт, указывающий на существование обмена между аминокислотами, содержащимися в пище, и аминокислотами тканевых белков. Для определения относительного обмена D в α , β и γ положениях проводилось постепенное разложение лейцина. Результаты представлены в табл. 17.

Эти данные указывают на существование дополнительных реакций обмена цельных аминокислот с аминокислотами тканевых белков. Во-первых, атом азота обменивается независимо от относи-

тельно устойчивых связей D—C в β и γ положении. Во-вторых, атом дейтерия в α положении обменивается с атомами водорода даже с более высокой скоростью, чем азот. Таким образом, этот относительно простой эксперимент может дать ясное представление о принципах динамического состояния и идее метаболического котла.

Таблица 17

Метаболические изменения соотношения между дейтерием и N^{15} при исходном содержании дейтерия в положении α, β, γ в L-лейцине [588]

Отношение D : N^{15}	Лейцин			Выделенный/Пищевой	
	из пищи	из тела	из внутренних органов	тело	внутренние органы
$D_\alpha : N^{15}$	1,46	0,38	1,53	0,26	1,05
$D_\beta : N^{15}$	3,72	8,05	5,53	2,17	1,49
$D_\gamma : N^{15}$	1,15	2,45	1,83	2,13	1,59

В приведенных выше примерах механизм, посредством которого происходит обмен молекул лейцина и их частей, известен лишь частично. Некоторые формы межклеточного обмена могут иметь место в тех случаях, при которых молекула не вступает в соединения в тканях, и некоторые, вероятно, встречаются в случае, когда лейцин составляет часть белковой молекулы.

Те же самые общие принципы, которые выявились в исследованиях, описанных выше, были применены в бесчисленном множестве экспериментов с использованием различного рода меченых атомов и молекул. Например, фосфор, сера и железо претерпевают быстрый обмен. Относительно углеродистых соединений становится ясным, что существуют одно- и двууглеродные радикалы, которые участвуют в разнообразнейших процессах биохимического синтеза и распада и, следовательно, могут тоже рассматриваться в концепции метаболического фонда. В конце концов было бы вполне возможно расположить биохимические вещества, составляющие их органические радикалы и атомы в почти непрерывные ряды биологической реактивности, начиная с тех, которые претерпевают быстрый обмен в различных направлениях, и вплоть до совсем инертных в биохимической среде.

Кругооборот веществ в клеточном ядре

Специальный интерес для настоящего обсуждения представляет рассмотрение взаимного обмена веществ ядра по сравнению с кругооборотом других веществ в клетках. Как уже указывалось, дезоксирибонуклеиновая кислота в тканях млекопитающих связана только с ядром. Следовательно, обмен компонентов ДНК *in vivo* по сравнению с обменом РНК, которая обнаруживается в других частях клетки, а также в ядре, дает указание на различие в скоростях об-

мена веществ
[255] исследов
тканей крысы
активного фос
дены в табл. 18
образом иссле
ставлены в таб
более низкой с
(ДНК). Это ос
лишь небольшо

Скорость о

Орган

Ну

Печень

Селезенка

Почка

Удельная активн

(удельная

Обр

Крыса в целом

Печень

Селезенка

Слизистая кишечн

Это явление

полученными Ф

скармливали к

после чего опр

РНК, как это у

Снова было н

низка. Это особе

ных в таблице,

шиеся в молеку

задерживаются

мена веществ ядра и других частей клетки. Гаммерстен и Хевеши [255] исследовали удельную активность ДНК и РНК, полученных из тканей крысы через два часа после подкожного введения ей радиоактивного фосфата. Некоторые из полученных ими результатов сведены в табл. 18. Результаты сходного опыта, в котором подобным же образом исследовались нуклеиновые кислоты крысы, в целом представлены в табл. 19. Данные этих двух опытов говорят о значительно более низкой скорости кругооборота ядерной нуклеиновой кислоты (ДНК). Это особенно очевидно в ткани печени, где можно ожидать лишь небольшого количества клеточных делений.

Таблица 18

Скорость обновления РНК и ДНК в органах крыс спустя два часа после введения меченого фосфата [255]

Орган	Нуклеиновая кислота	Отношение удельной активности Р нуклеиновой кислоты к удельной активности Р органа, %	Отношение удельной активности фосфора РНК к удельной активности фосфора ДНК
Печень	РНК	3,45	33
	ДНК	0,105	
Селезенка ..	РНК	6,6	3
	ДНК	2,2	
Почка	РНК	6,1	2
	ДНК	2,8	

Таблица 19

Удельная активность фосфора нуклеиновых кислот крысы в целом, печени, селезенки и слизистой кишечника [255]
(удельная активность фосфора РНК всей крысы принята за 100)

Образец	РНК	ДНК	Неорганический фосфор
Крыса в целом	100	60	
Печень	164	4,4	5100
Селезенка	292	63	2850
Слизистая кишечника	112	63	2770

Это явление, кроме того, подчеркивается некоторыми данными, полученными Фюрстом, Роллем и Брауном [191]. Эти исследователи кормили крыс аденин, меченный N^{15} , в положениях 1 и 3, после чего определяли скорость кругооборота пуринов ДНК и РНК, как это указано в табл. 20.

Снова было найдено, что скорость кругооборота ДНК была очень низка. Это особенно ясно видно в последних двух опытах, приведенных в таблице, в которых показано, что меченые пурины, включившиеся в молекулу ДНК во время быстрых митозов, большей частью задерживаются на длительный период времени, в то время как

Таблица 20

Включение аденина в нуклеиновые кислоты* [191]

№ эксперимента	Дезоксирибонуклеиновая кислота			Рибонуклеиновая кислота		
	общие пурины	аденин	гуанин	общие пурины	аденин	гуанин
1. Смесь различных внутренних органов; аденин скармливали в течение 10 дней		0,55	0,38		15,9	9,1
2. Нерастущая печень; аденин скармливали в течение 5 дней ...	0,17	0,29			21,2	8,7
3. Регенерирующая печень, аденин скармливали в течение 5 дней ...	8,7	16,3	3,2	11,8	22,7	8,1
4. Регенерирующая печень; 26 дней; аденин не скармливали после 5 дней кормления	6,5			1,8	2,7	1,7

*При расчете за 100% принято количество скормленного меченого аденина.

меченые пурины из РНК в значительной степени исчезают за тот же самый период. Авторы этих работ полагают, что все случаи включения аденина в ДНК клеточных ядер печени имеют место при клеточном делении, и, следовательно, ДНК имеет постоянную структуру, не участвующую в обмене. Однако поскольку отношение скоростей обмена для аденина РНК и ДНК в клетках печени составляет 73 : 1, в то время как отношение скоростей для фосфора равно 33 : 1 (что рассматривалось выше), возможно, что структура ДНК и не является полностью инертной.

Таблица 21

Относительные скорости включения меченых аминокислот во фракции из клеток печени морской свинки (в μ молях аминокислоты на 1 г белка в час) [63]

Вещество	Ядра		Митохондрии		Микросомы		Надосадочная жидкость	
	in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	in vitro	in vivo
Глицин	0,52	0,56	0,40	0,6	0,075	1,3	0,0	0,69
Гистидин	0,32	1,5	0,15	1,2	1,5	3,1	3,7	1,2
Лейцин	0,61	2,3	?	1,1	0,0	4,3	0,0	1,8
Лизин	4,1	1,3	3,2	1,6	0,9	2,9	3,2	1,6

Опыты Борсука и сотрудников [63] показали, что белки ядер в отличие от ДНК претерпевают аминокислотный обмен с большой скоростью. Некоторые данные приводятся в табл. 21. Отметим, что in vivo фракция микросом наиболее активна, но и ядерная фракция

также очень активна. Когда были проведены эксперименты по включению меченых соединений в изолированные фракции, ядерный препарат оказался наиболее эффективным и значительно более активным, чем, вероятно, наиболее загрязненная фракция, которая содержит митохондрии. В нашем распоряжении имеется очень мало сведений подобного рода, и получение более полных данных, касающихся кругооборота всех химических компонентов ядра в процессе обмена веществ, является делом величайшей важности. Гены — устойчивые и самовоспроизводящиеся единицы, и крайне низкая скорость кругооборота ядерной ДНК говорит о стабильности биохимического окружения, что может быть связано со стабильностью генов. Таким образом, можно прийти к заключению, что гены состоят из дезоксирибонуклеиновой кислоты. С другой стороны, следовало бы упомянуть, что биохимическая стабильность может действительно быть результатом инертности окружающей среды, а также и результатом сбалансированного цикла реакций с быстрым кругооборотом веществ, входящих в цикл. Стабильность динамического процесса может быть характеристикой генов, точно так же как и многих клеточных структур и биохимических реакций. В настоящее время лучше всего, по-видимому, отложить суждение о том, является ли вещество гена биохимически инертным, лабильным или инертным и лабильным одновременно.

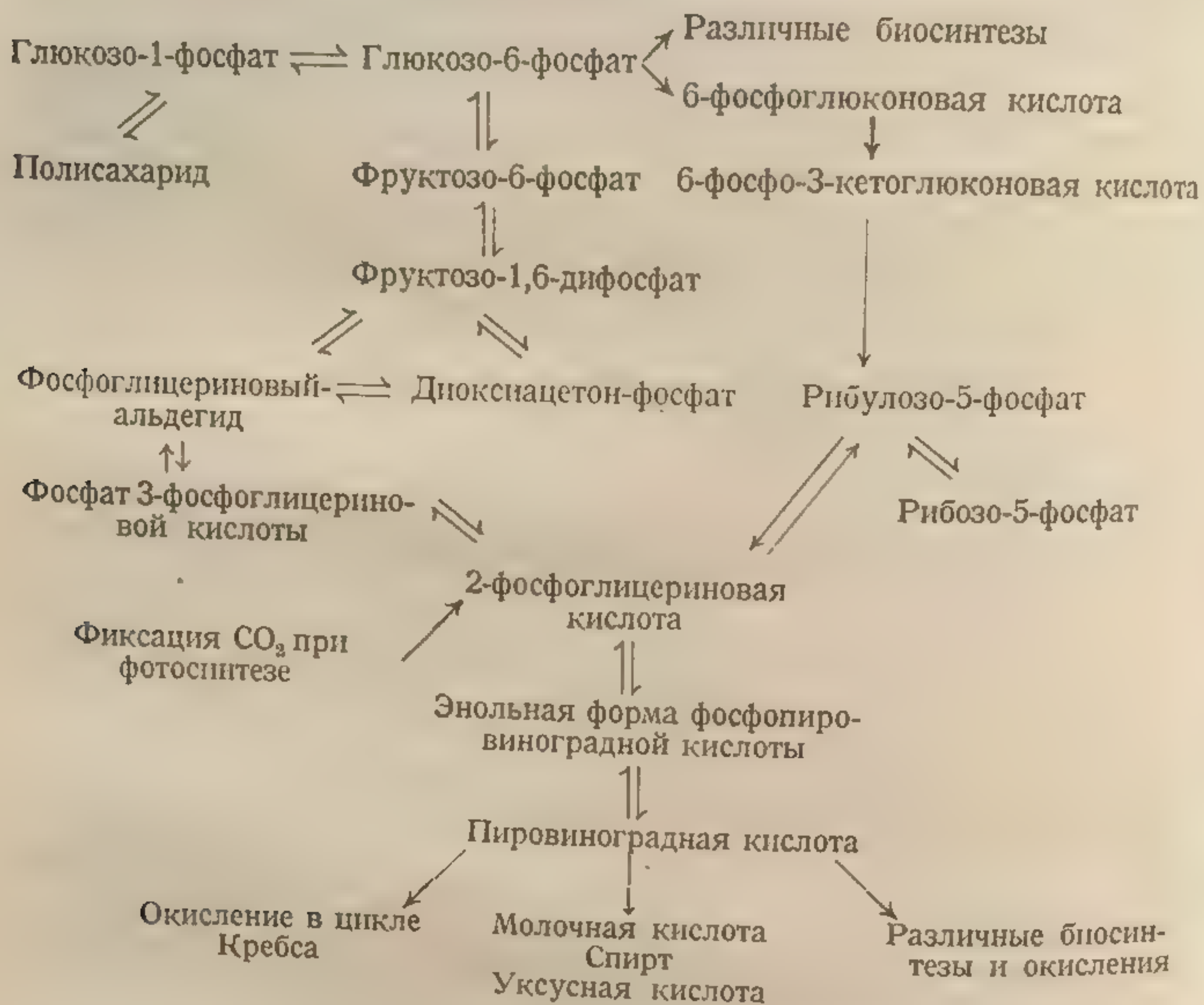
БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ

До сих пор обсуждение в этой главе основывалось на утверждении, что единицы наследственности контролируют главным образом относительные скорости реакций. Было указано, что имеется много возможных способов, которыми можно влиять на скорости даже в относительно простых системах, и что при рассмотрении ферментативных комплексов должно учитываться еще больше переменных. Неизвестно, насколько должна быть изменена скорость реакции, чтобы получить явное фенотипическое изменение в организме. Однако весьма возможно, что очень небольшие изменения скорости могут вызвать очень резкие изменения морфологических или биохимических особенностей. Например, если субстанция А наблюдается как структурная единица в клетке и существует благодаря тому, что скорость ее образования равна скорости разложения, то небольшое снижение скорости ее образования скажется в исчезновении субстанции А, если скорость разложения ее останется неизменной и если это не будет компенсироваться другими биохимическими факторами.

При обсуждении вопроса о скоростях реакций мало внимания уделялось типам биохимических реакций и механизмам, которые их обуславливают. В задачи настоящей книги не входит детальное обсуждение этих проблем, но некоторые из сторон имеют прямое отношение к вопросу о скоростях реакций и генетическом контроле этих скоростей. Некоторые из таких моментов обсуждаются ниже.

Энергетика биохимических реакций

Когда химические реакции, протекающие в клетке, достигают термодинамического равновесия, клетка погибает и разрушается. Жизнь клеток поддерживается путем расходования энергии, поставляемой из окружающей среды, и благодаря их свойствам



Фиг. 35. Схема, показывающая некоторые пути обмена углеводов.

извлекать и сохранять эту энергию и материалы на будущее время. Клетка расходует энергию быстрее, чем накапливает ее, и кажущееся нарушение термодинамических законов из-за чрезвычайно высокой степени организации ее является артефактом, возникающим в результате ее динамического состояния.

Как уже упоминалось, многие исследователи, работавшие в этой области, предлагали рассматривать живую систему как систему, существующую в устойчивом состоянии в отношении ее биохимических процессов. Это, конечно, может быть буквально приложимо только к короткому периоду времени, так как клеточные деления, приспособление к изменениям окружающей среды и старение, несомненно, вводят элементы неустойчивости в процессы, протекающие в

клетках. В действительности не могут быть сбалансированы в течение длительного времени.

У фотосинтезирующих растений поддержание системы из других организмов — шаемых из окружающей среды.

В клетках того же типа углеводов имеют суточные колебания и перераспределения энергии химических связей. Эта схема и в деталях можно и в обсуждений. Особенности таких реакций включаются. Как будет показано при передаче энергии, следует иметь в виду, что кислоты — это не едкие вещества, а носители энергии.

Биохимические реакции — это последовательность реакций, которые идут в одном направлении или в обратном, или в равновесии. Более или менее простые реакции из окружающей среды не менее потенциально любой серии имеет свои пути реакции, а также некоторые особенности [318]. Рассмотрим с

Здесь k_1 и k_2 — скорости реакций, которые идут в одном и в обратном направлении. Хотя на скорости катализаторы, как факторы, и реакция равновесия для уравнения

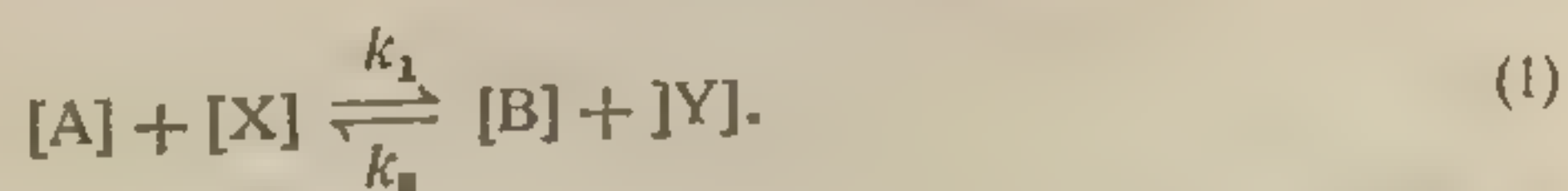
клетках. В действительности следует считать, что скорости реакций не могут быть совершенно одинаковыми свыше определенного интервала времени.

У фотосинтезирующих организмов энергия, необходимая для поддержания системы, поступает из световой энергии, тогда как у других организмов — из энергии химических связей веществ, поглощаемых из окружающей среды.

В клетках того и другого типа реакции образования и распада углеводов имеют существенное значение, так как они служат путями сохранения и перераспределения большей части световой энергии и энергии химических связей среди большого разнообразия новых химических связей. Схема углеводного обмена представлена на фиг. 35. Эта схема ни в коем случае не является полной, и дальнейшие подробности можно найти в ряде обзоров [139, 345, 363]. Приводимая схема достаточна, чтобы дать общую ориентацию для последующих обсуждений. Особенно следует упомянуть тот факт, что несколько таких реакций включают образование фосфорных эфиров или ангидридов. Как будет показано позднее, такие вещества крайне важны при передаче энергии в процессах обмена веществ. С другой стороны, следует иметь в виду, что органические производные фосфорной кислоты — это не единственные вещества, используемые при передаче энергии.

Сопряженные реакции

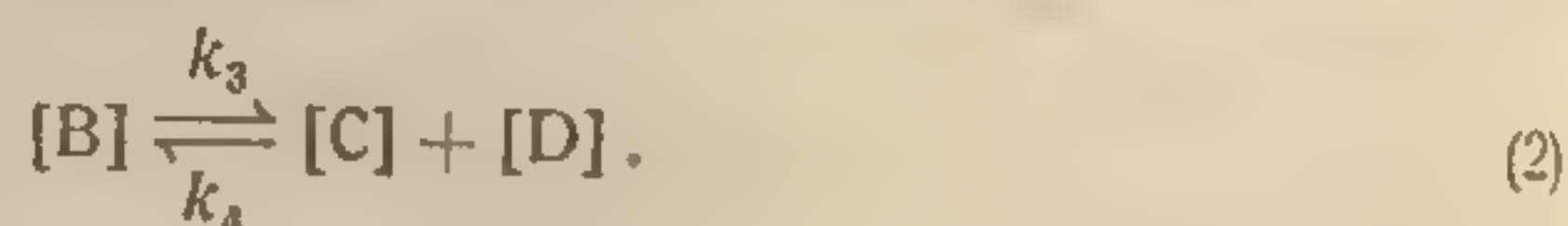
Биохимические реакции в живых клетках протекают в определенной последовательности, причем пути метаболизма характеризуются большим числом дивергенций и конвергенций. Хотя некоторые обратимые реакции могут достигать равновесия, вообще имеется более или менее постоянное передвижение материалов от поступающих из окружающей среды к экскретируемым обратно в среду. Тем не менее потенциально равновесное состояние каждой реакции в любой серии имеет большое значение для определения направления путей реакции, а также состава самой ткани. Поэтому следует изучить некоторые основные вопросы, касающиеся равновесия реакции [318]. Рассмотрим следующую гипотетическую реакцию:



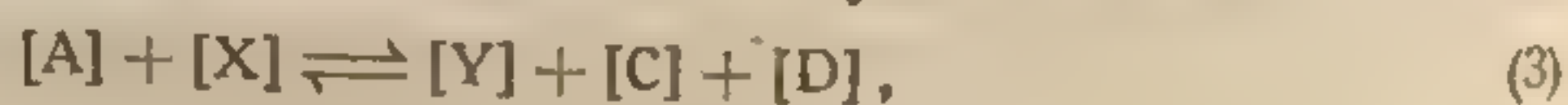
Здесь k_1 и k_2 — специфические константы скорости обратимых реакций, которые имеют место между четырьмя веществами А, Х, В и Y. Хотя на скорости реакций могут оказывать влияние такие катализаторы, как ферменты, они изменяются в обоих направлениях одинаково, и реакция может быть описана в терминах константы равновесия для уравнения (1)

$$K_1 = \frac{k_1}{k_2} = \frac{[B][Y]}{[A][X]},$$

Предположим, что $K_1 = 0,01$ и что в разведенных растворах действительные концентрации равны активным концентрациям. В этом примере, следовательно, при равновесии $[A] \cdot [X] = 100 [B] \cdot [Y]$ для образования значительно меньших количеств В или Y требуется высокая концентрация А или X. Можно избежать необходимости иметь высокую концентрацию одного или обоих реагентов путем «подключения» к системе другой реакции, как это показано ниже



Здесь константа равновесия для уравнения (2) $K_2 = \frac{k_3}{k_4} = \frac{[C] \cdot [D]}{[B]}$, и сделано допущение для настоящей цели, что значение $K_2 = 1000$. (1) и (2) реакции теперь могут иметь место последовательно через общий компонент [B]. Так как равновесие реакции (2) в очень большой мере благоприятствует образованию веществ С и D, концентрация В в системе может снизиться до очень малой величины и реакция (1) сможет протекать, не нуждаясь в высокой концентрации А или X. Таким образом, суммарная реакция будет такова:



где

$$K_3 = K_1 \cdot K_2 = 10.$$

Выражая реакцию количественно и в единицах энергии, можно показать, что стандартное изменение свободной энергии в реакции $\Delta F^\circ = RT \ln K$. Эта величина представляет требуемое изменение свободной энергии системы для превращения реагентов, находящихся в стандартном состоянии (в молярных растворах), в продукты, находящиеся в таких же стандартных состояниях. Для приведенных выше реакций при 25° :

$$\Delta F^\circ = + 2,740 \text{ кал (1)}$$

$$\Delta F^\circ = - 4,110 \text{ « (2)}$$

$$\Delta F^\circ = - 1,370 \text{ « (3)}$$

Условно принято, что величина ΔF° отрицательна для спонтанных (экзэргонических) реакций и положительна для реакций, поглощающих энергию (эндэргонические реакции). Очевидно, что любая одноступенчатая обратимая реакция может идти в любом направлении в зависимости от концентрации реагентов и образующихся веществ и также от константы равновесия. Ни одна реакция не может протекать в направлении от состояния равновесия, но эндэргоническая реакция может быть «приведена в движение» путем сопряжения ее с экзэргонической реакцией через общий реагент и через последовательные этапы, как было показано в приведенном выше примере. Следует отметить, что скорости отдельных или последовательных реакций не зависят от констант равновесия, но определяются свойствами катализаторов данной системы. Таким образом, катализа-

торы определяют действие в то время как суммарная возможность осуществления (150), механизмы катализаторов очень сложным, что естественности.

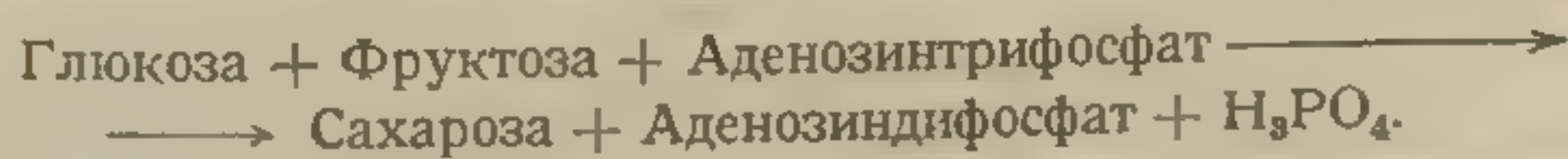
Сопряженность — в процессах. Она делает длинные серии реакций количеств промежуточных веществ. В любом конкретном случае, равновесие может быть только одна реакция такого типа реакция другой или расположенные этих данных относительно приводит к некоторым изменений на процесс любой реакции, нормальное представляется очевидно на концентрацию одного направление спонтанно быть накопление промежуточного вещества способности к синтезу некоторых положений, в реакции, заключается в утрате экзэргонического стадий. Если реакция приводит к утрате длинным, то можно ожидать, что блокирование мест, дадут, по существу в живой клетке веществ, которые могут посредством окисления химических изменений. В насильно связи, различного ангидриды и амиды фосфата энергии в биологическом движущей реакции других эндэргонических.

Глюкоза + Фруктоза → Сахароза
Некоторые биологические процессы перечислены

торы определяют действительное направление и скорость реакции, в то время как суммарное изменение свободной энергии указывает на возможность осуществления реакции. Как показано ниже (стр. 150), механизм катализируемых ферментами реакций может быть очень сложным, что еще более увеличивается благодаря сопряженности.

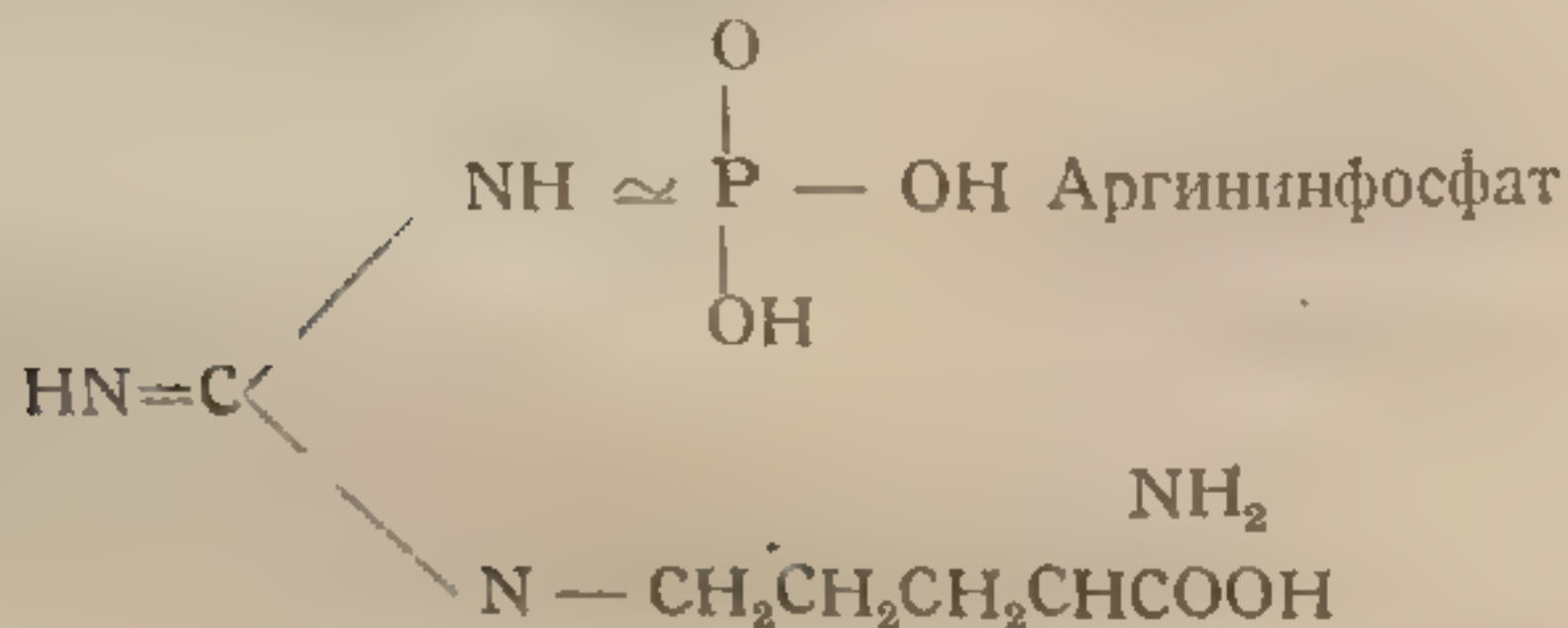
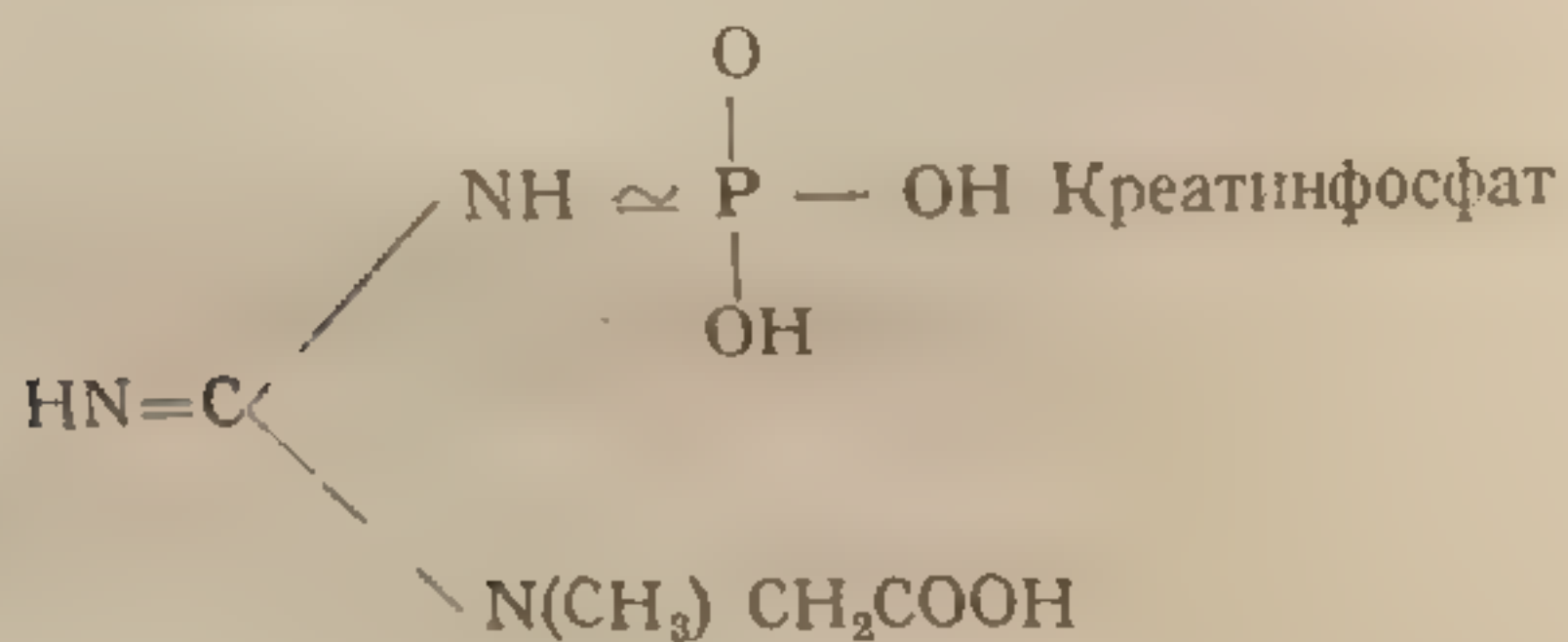
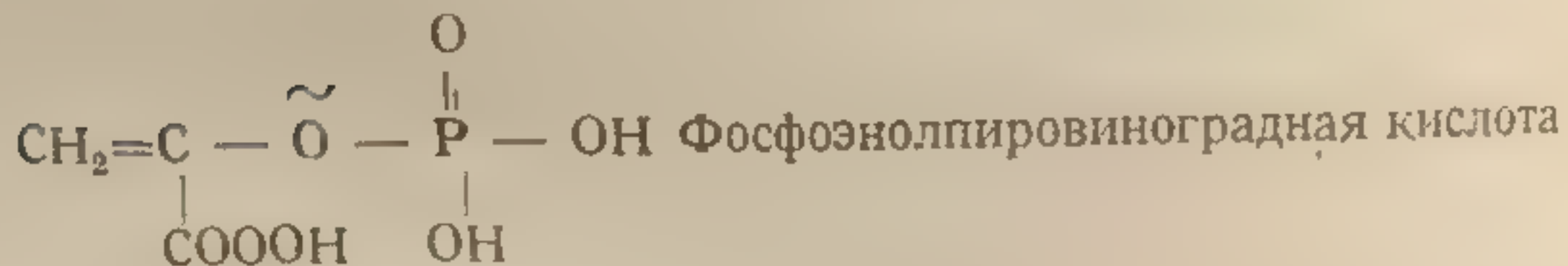
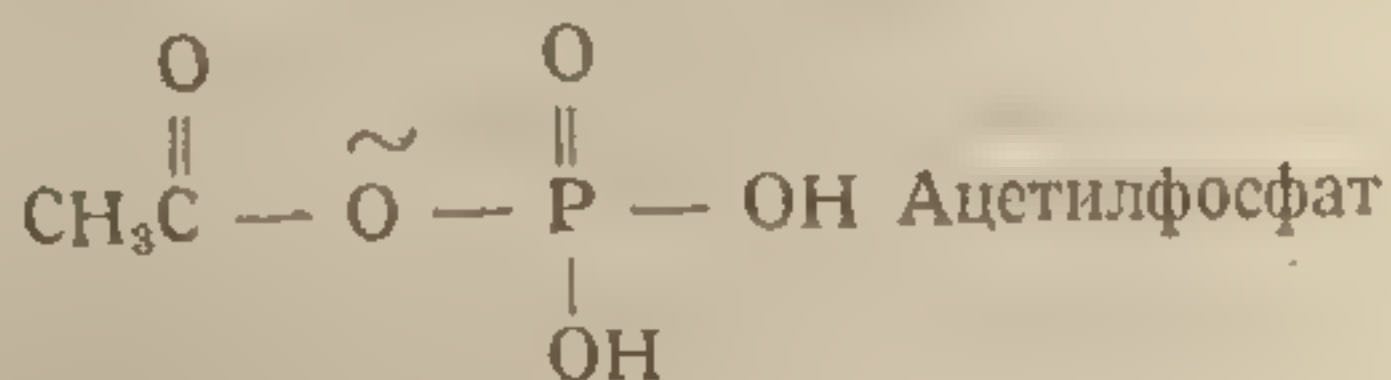
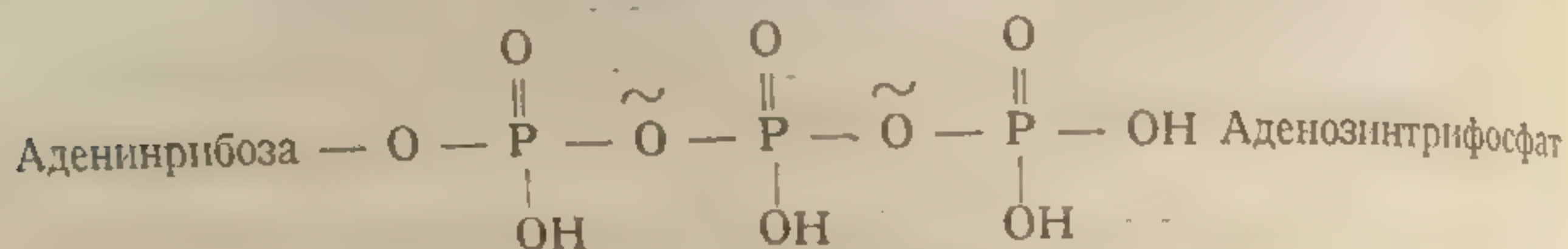
Сопряженность — весьма важная особенность биохимических процессов. Она делает возможным прохождение веществ через длинные серии реакций без необходимости накопления избыточных количеств промежуточных продуктов непосредственно перед реакцией, равновесие которой не благоприятствует направлению потока веществ. В любом конкретном ряду биохимических реакций может быть только одна реакция, требующая сопряженности, или большее число такого типа реакций, непосредственно следующих одна за другой или расположенных с промежутками вдоль цепи. Обсуждение этих данных относительно энергетики химических реакций приводит к некоторым важным выводам о влиянии генетических изменений на процесс обмена веществ. Во-первых, относительно любой реакции, нормально протекающей вблизи уровня равновесия, представляется очевидным, что генетические изменения, влияющие на концентрацию одного из реагирующих веществ, могут менять направление спонтанного потока веществ. Следствием этого может быть накопление промежуточного продукта, изменение направления потока веществ и, возможно, потеря соответствующей способности к синтезу некоторых весьма важных соединений. Второе важное положение, вытекающее из рассмотрения сопряженных реакций, заключается в том, что генетическое изменение, проявляющееся в утрате экзергонической стадии сопряженной системы, приводит также к утрате одной или многих зависимых эндэргонических стадий. Если ряд зависимых эндэргонических этапов является длинным, то можно ожидать, что несколько различных мутаций, приводящих к блокаде ряда различными путями и в различных местах, дадут, по существу, один и тот же фенотип.

В живой клетке содержится большое количество различных веществ, которые могут давать энергию для сопряженных реакций посредством окисления или восстановления, гидролиза или других химических изменений. К ним относятся носители водорода, пептидные связи, различного рода эфиры, полуацетали и многие другие виды соединений. В настоящее время твердо установлено, что эфиры, ангидриды и амиды фосфорной кислоты особенно важны для переноса энергии в биологических системах. Гидролиз этих веществ служит движущей реакцией при сопряжении ее с большинством других эндэргонических реакций. Например:

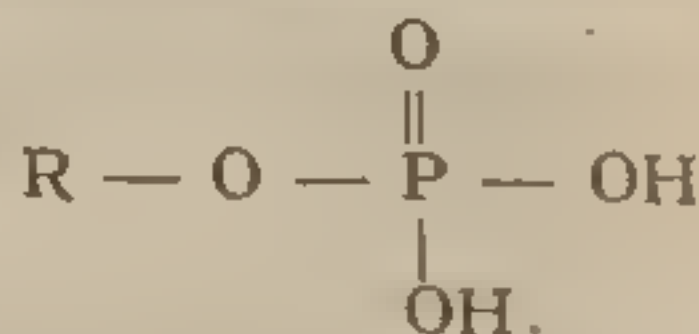


Некоторые биологически важные производные фосфорной кислоты перечислены на фиг. 36.

Группа 1. Макроэргические ангидриды и амиды с энергией от 11 до 14 ккал на 1 моль. Значок ~ указывает макроэргическую связь (энергия освобождается при гидролизе)



Группа 2. Эфиры, обладающие низкой энергией связи 2000—3000 ккал/моль

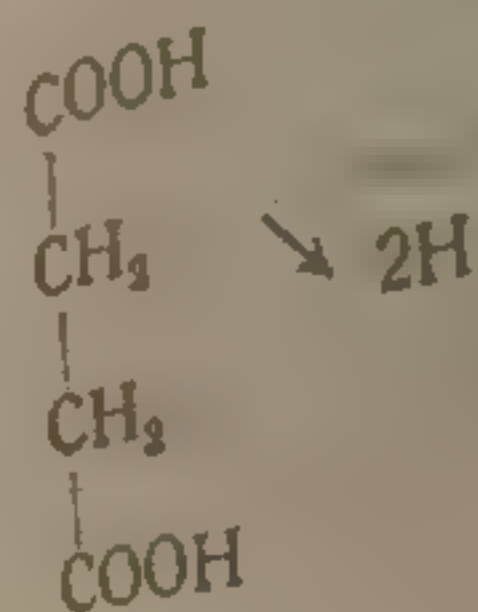


Фиг. 36. Некоторые биохимически значимые фосфорные эфиры, ангидриды и амиды.

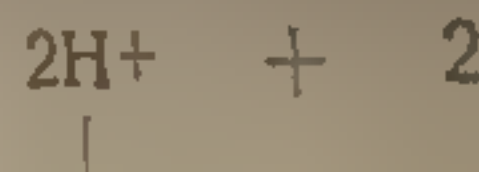
Синтезы макроэргических фосфатных связей

Использование энергии химических связей для синтеза богатых энергией фосфатных связей (см. фиг. 36) происходит посредством окисления при помощи различных и часто сложных механизмов. Например, при окислении пировиноградной кислоты через цикл Кребса (см. фиг. 34) кислород не используется непосредственно, но

это окисление связано с переносом электронов к кислороду, как у только один этап дегидрирования являются белками, содержащими электроны посредством окисления не вполне известна точная природа посредством которого происходит



Восстановленная

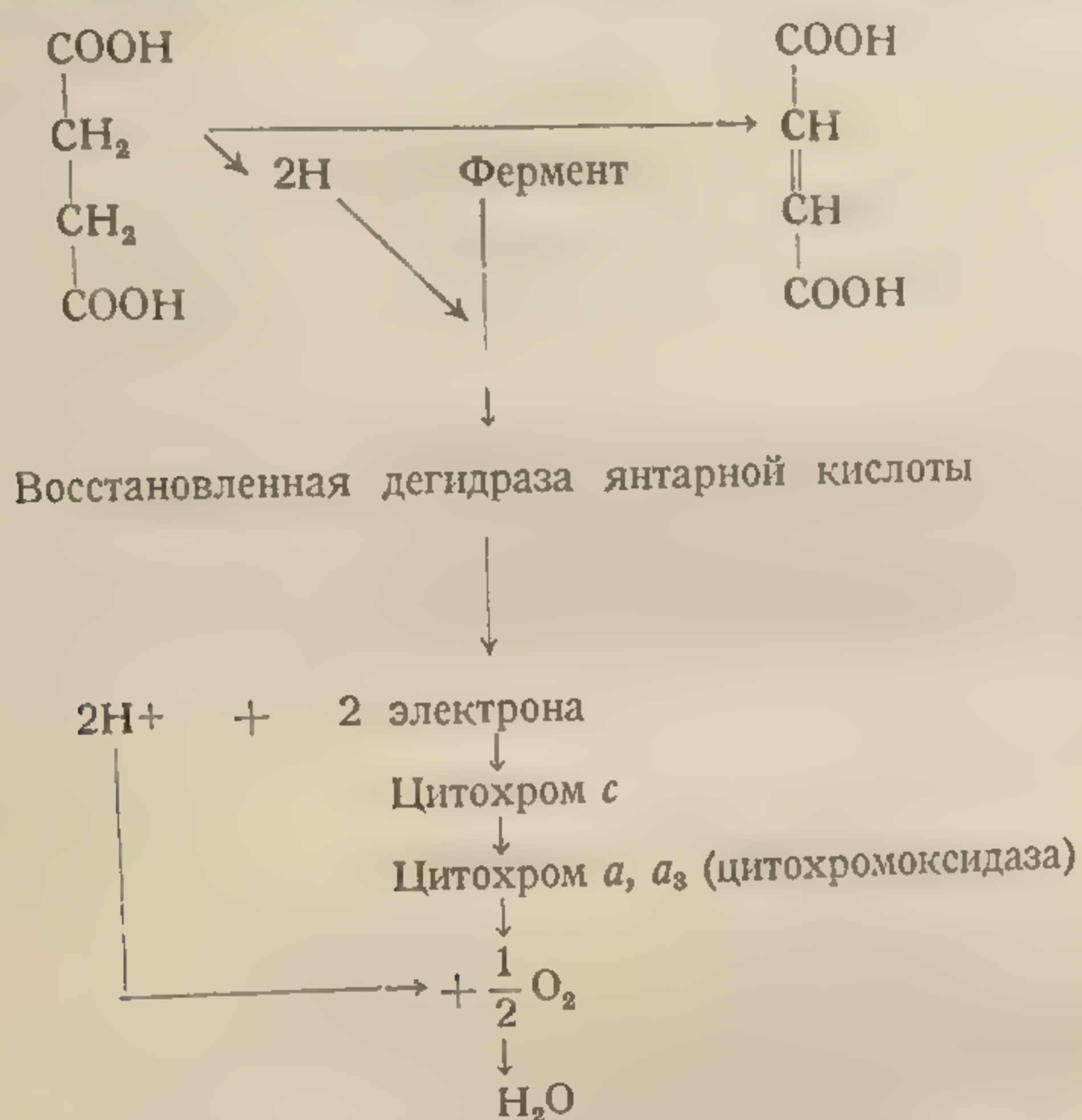


Фиг. 37. Диаграмма янтарной кислоты

общий контур реакции ясно, многими процессами дегидрирования также ясно, что связана в свою очередь с рсвязи фосфорных эфиров. на фиг. 38.

Многочисленные исследования связаны с Гринном [225] Поттером [493], получили жирных кислот имеет место в структурных компонентах ранее. Гросс и другие [1] текаст в очень тесно обладают совокупностью отдельных ферментов

это окисление связано с цитохромной системой, транспортирующей электроны к кислороду, как указано на фиг. 37. Здесь приведен только один этап дегидрирования янтарной кислоты. Цитохромы являются белками, содержащими железо и порфирины и переносящими электроны посредством окисления и восстановления железа. Еще не вполне известна точная природа всех компонентов и механизм, посредством которого производится перенос электронов, однако



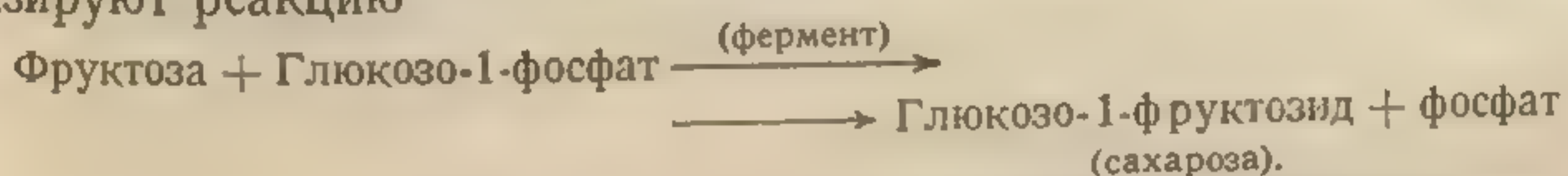
Фиг. 37. Диаграмма, показывающая окисление янтарной кислоты в системе цитохрома.

общий контур реакции ясен, а факт сопряженности этой реакции со многими процессами дегидрирования твердо установлен. В настоящее время также ясно, что система транспорта электронов сопряжена в свою очередь с реакциями, образующими макроэргические связи фосфорных эфиров. Эти отношения схематично представлены на фиг. 38.

Многочисленные исследователи, особенно те, которые были связаны с Грином [225], Ленингером [357], Шнейдером [543] и Поттером [493], получили данные о том, что окисление пирувата и жирных кислот имеет место в ферментных системах, содержащихся в структурных компонентах клетки, которые уже рассматривались ранее. Гросс и другие [119] считают, что весь процесс в целом протекает в очень тесно сопряженной системе, в которой ферменты обладают совокупностью свойств, не являющихся характерными для отдельных ферментов.

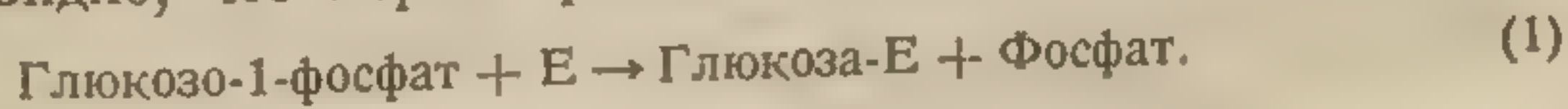
как и бесчисленные некатализируемые химические реакции сложны по природе, и даже если они могут быть в целом стехиометрическими, они могут иметь последовательно ступенчатый, одноступенчатый или цепной характер.

Возможно, более удовлетворительным будет определение биохимической реакции с точки зрения катализатора, который принимает участие в изменении. Таким образом, если вещество А превращается в вещество В под влиянием препарата одного фермента, то такую реакцию $A \xrightarrow{\text{■}} B$ можно назвать одноступенчатой биохимической реакцией. В действительности же даже в простейшем случае, несомненно, имеются по крайней мере 2 ступени, и важно с этой точки зрения рассмотреть несколько примеров определенных таким образом реакций, чтобы можно было учесть возникающие осложнения. Ранее в этой главе при обсуждении кинетики простых гидролитических реакций предполагалось, что имеют место двухступенчатые реакции, иначе говоря, субстрат соединяется с ферментом и затем комплекс распадается на продукты реакции плюс фермент. Один из примеров, подтверждающих предположение об образовании промежуточного комплекса фермент — субстрат, мы находим в работах Дудорова, Баркера и Хассида [148]. Было найдено, что ферменты, полученные из бактерии *Pseudomonas saccharophila*, катализируют реакцию

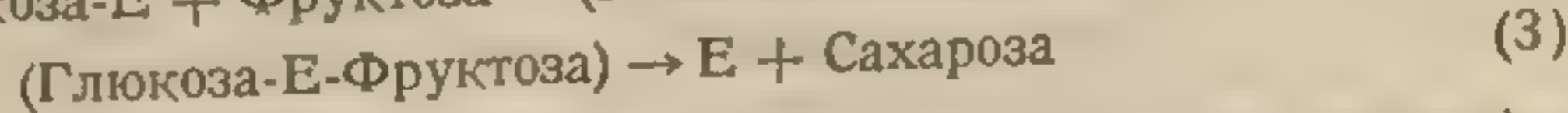
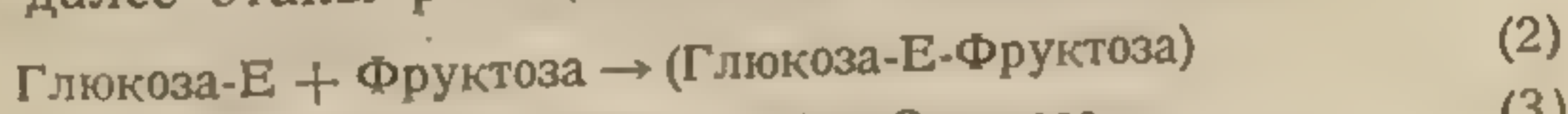


Предположение о включении одного фермента вполне приемлемо, и, согласно приведенному выше определению, этот случай является примером одноступенчатой биохимической реакции.

Изучение этой системы показало, что при смешении фермента с глюкозо-1-фосфатом в присутствии неорганического радиоактивного фосфата, глюкозо-1-фосфат вскоре становится меченым. Таким образом, очевидно, что первая реакция такова:



Следующие далее этапы реакции можно написать так:

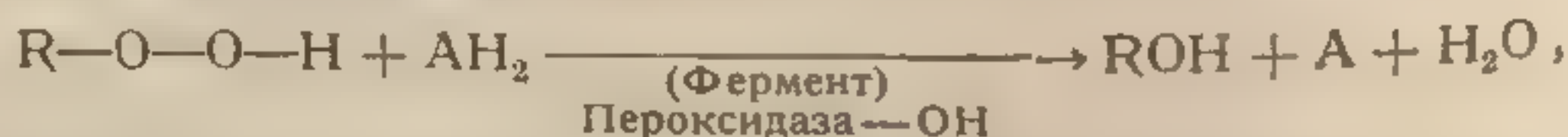


Было найдено, что фруктоза может быть заменена в реакции несколькими другими сахарами и что для обмена нет необходимости начинать с фосфатного эфира. Такой дисахарид, как сахароза, столь же пригоден. Существенной частью реакции является, следовательно, соединение глюкозы с ферментом таким способом, чтобы сохранить необходимую энергию связи для переноса глюкозы к другим акцепторам. Следует отметить, что, как описано в этой реакции, действительно имеется по крайней мере два и, возможно, три обратимых этапа, на каждый из которых (в отношении скорости) более или

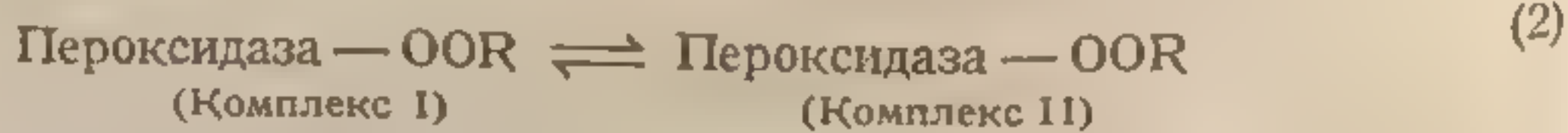
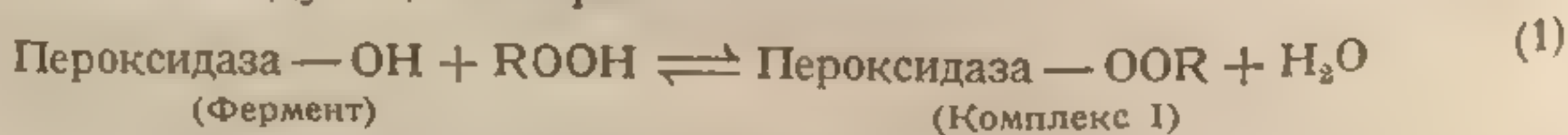
менее независимо друг от друга могут оказывать влияние химические или физические факторы окружающей среды. Было показано, например, что глюкоза является сильно действующим ингибитором в обмене фосфата в системе глюкоза-1-фосфат—фермент, и представляется очевидным, что это происходит вследствие конкуренции между сахаром и эфиром за реакцию с ферментом (см. выше, этап I).

Дудоров и другие [148] предположили, что этот фермент является представителем класса катализаторов, который может быть отнесен к «трансглюкозидазам», и следует указать, что этот образец имеет всеобщее значение. Как теперь известно, перенос или обмен целых групп в такой форме представляет собой широко распространенное явление, которое имеет место при многих относительно простых реакциях и, вероятно, при превращениях сложных липидов, нуклеиновых кислот и белков, а также полисахаридов. Это очевидный путь для получения множества сходных продуктов с минимальной затратой энергии. Можно также допустить широкую регуляцию скоростей реакций при конкуренции между многими субстратами (подавление в множественных субстратах, стр. 130).

Еще глубже заглянуть в сущность биохимических реакций можно при рассмотрении данных, касающихся механизма действия пероксидазы и каталазы. Особенно изящные эксперименты с кристаллическими ферментами были описаны Ченсом [103]. Пероксидаза — фермент, который содержит одну молекулу железопорфирина (гематин) в качестве простетической группы или кофермента. Он катализирует основной тип реакции



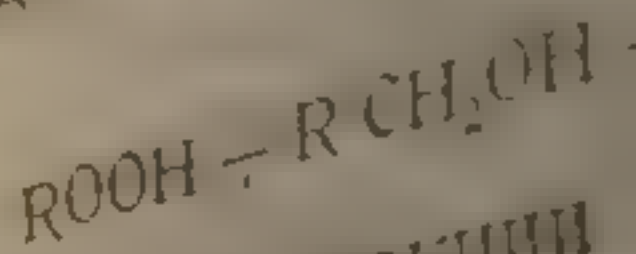
где А может быть фенолом, ароматическим амином или каким-либо из немногих веществ другого рода. ROOH может быть H₂O₂ или таким веществом, как гидроперекись метила или этила. Ченс показал спектрофотометрически существование двух промежуточных комплексов фермент — субстрат и изучил кинетику нескольких этапов, участвующих в суммарной реакции. Эти этапы были сформулированы следующим образом:



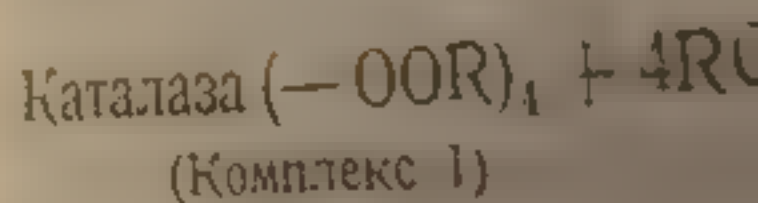
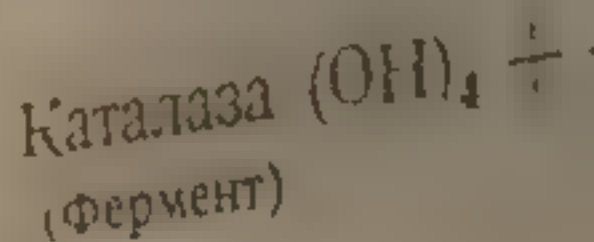
Представляется вероятным, что реакция (3) может проходить в два этапа с третьим промежуточным комплексом пероксидаза — OOR—AH₂, но эти два этапа могут быть одновременными.

Действие каталазы [102] сходно в некоторых отношениях с действием пероксидазы, но при этом имеют место некоторые дополнительные интересные моменты. Этот фермент содержит четыре моле-

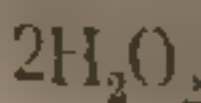
кулы гематина на молекулу пероксидазы при окислении субстрата. Катализ перекиси водорода. Катализ в целом может быть



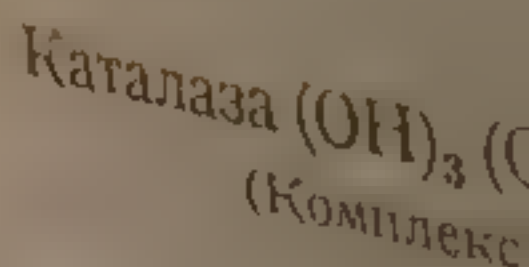
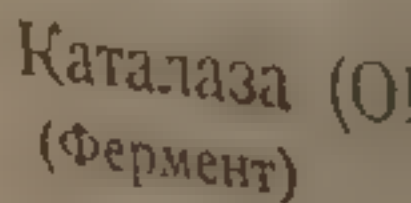
Ступенчатость реакции, полученными методами:



Несколько сходным образом



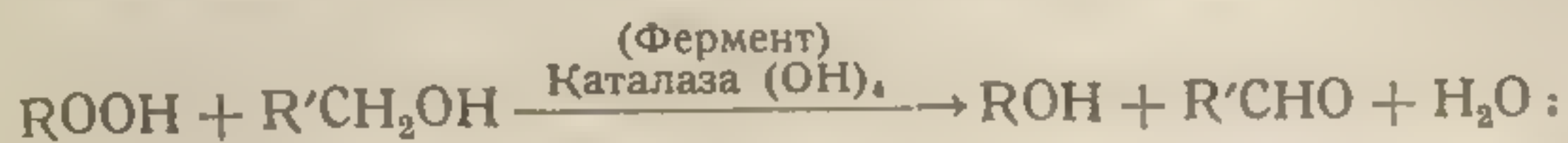
описывалось Ченсом:



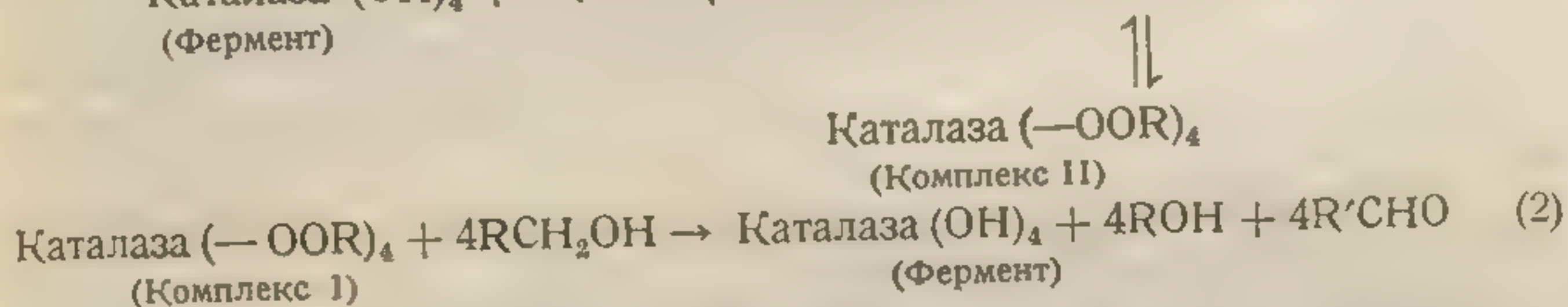
Этими двумя примерами в этом случае имеют место от ступенчатости этапов не последовательные, а соединяются с ферментом. Кроме того, перекись в этих этапах своего рода следует формуле Мейштейна.

Следует отметить к числу лучших, действующих ферментов — субстрат. Соединяется фермент с субстратом в промежуточном периоде и этапы механизма и этапы

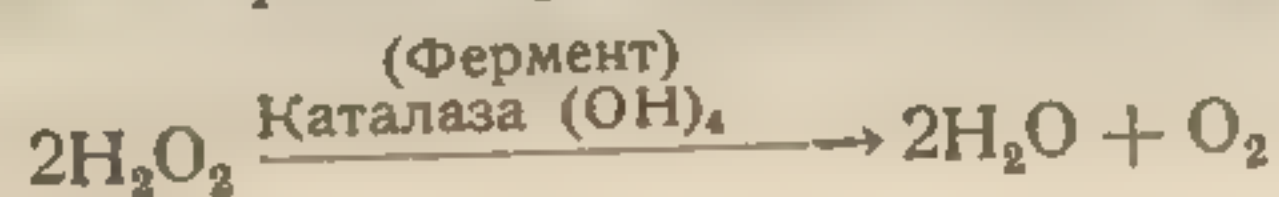
кулы гематина на молекулу белка и может действовать как пероксидаза при окислении спиртов или как катализатор при разложении перекиси водорода. Когда фермент действует как пероксидаза, реакция в целом может быть сформулирована в виде:



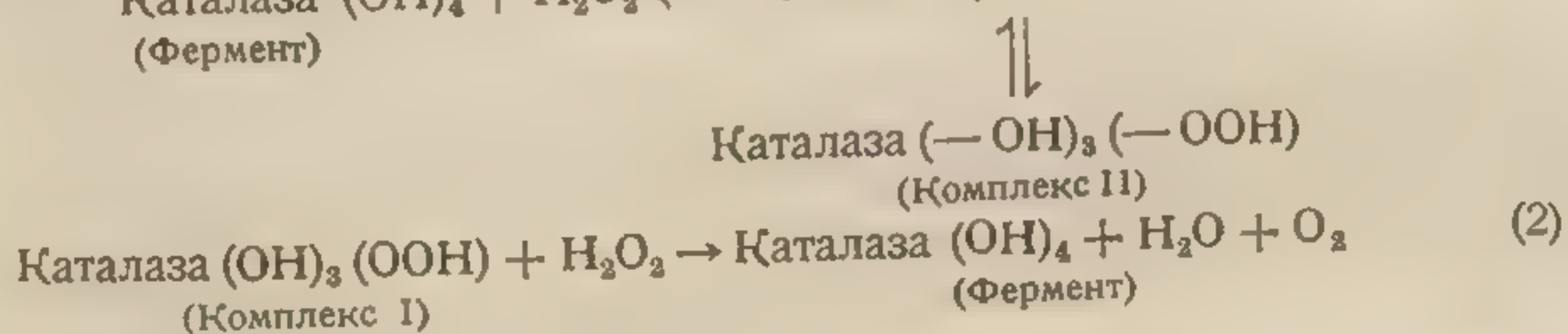
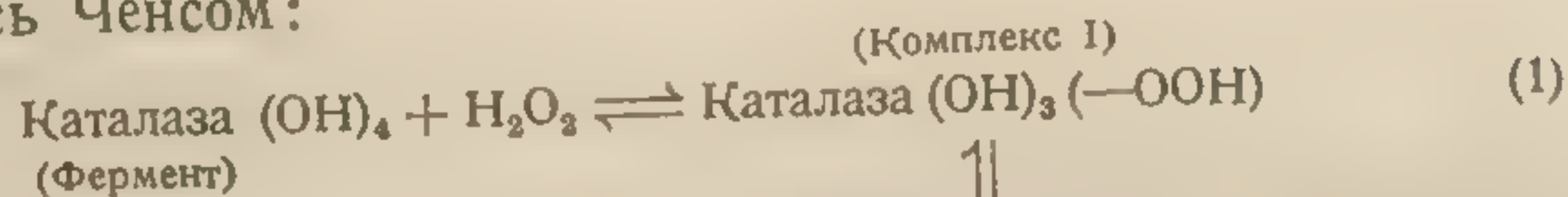
Ступенчатость реакции была доказана экспериментальными данными, полученными также при помощи спектрофотометрических методов:



Несколько сходным образом разложение перекиси водорода



описывалось Ченсом:



Этими двумя примерами было показано, что, как и с пероксидазой, в этом случае имеются по крайней мере три этапа. Однако в отличие от ступенчатости реакции, катализируемой пероксидазой, эти этапы не последовательны, так как комплекс II не вступает непосредственно в окончательную реакцию. Отметим также, что H_2O_2 не соединяется с ферментом в той же мере, как органические перекиси. Кроме того, перекись водорода присутствует на обоих установленных этапах своего распада, так что кинетика суммарной реакции не следует формуле Михаэлиса и Ментона или Штрауса и Гольдштейна.

Следует отметить, что приведенные выше примеры принадлежат к числу лучших, демонстрирующих образование комплекса фермент — субстрат. Однако не обязательно верно, что все катализируемые ферментами реакции осуществляются посредством образования промежуточных веществ, существующих в течение ограниченного периода времени. Это поднимает нерешенный вопрос о механизме и этапах катализируемых ферментными комплексами ре-

акций. С системой последнего рода имеются очевидные трудности в определении реакции на принятой здесь биологической основе, т. е. что реакция в целом катализируется одним ферментом. Тем не менее эта концепция окажется, вероятно, более полезной для настоящих целей, чем представление об одноступенчатой биохимической реакции как об отдельном химическом этапе. Однако основной целью обсуждения природы биохимических реакций является более детальное рассмотрение некоторых дополнительных возможностей, касающихся путей, которыми можно повлиять на скорости реакций. Затем в связи с проблемой механизма генетического контроля обмена веществ будет удобно показать, что на скорость отдельной биохимической реакции, протекающей либо под влиянием одного определенного фермента, либо ферментного комплекса с едиными в совокупности свойствами, можно в значительной степени повлиять двумя общими способами:

- 1) посредством изменения самого фермента в количественном или качественном отношении;
- 2) посредством воздействия на различные химические ступени суммарной реакции путем изменения биохимических и физических условий.

МУТАЦИИ И

В 1945 г. Бидл, связанные с ними тезу о взаимоотношениях. Он формулирует гипотезу о взаимоотношениях. Он формулирует гипотезу о взаимоотношениях. Он формулирует гипотезу о взаимоотношениях.

«Желательно рассмотреть различные наборы генов и их действия с учетом того, что возможны, но и, по крайней мере, в определенной степени правдоподобны.

Для того чтобы гены должны обладать свойствами самих себя... Кроме того, гены имеют свои собственные свойства... Определяющие физические конфигурации определяют специфические первоначальные функции, протекающие в генах, обладающих, как генов, что конечный фермент обычно синтезируется.

Если мутация автокатализу, то гены, если гены остаются геном, мутаций, существующих (или морф), к унаследованным морфам и, наконец, к гетерокатализу. Позже...

Глава VII

МУТАЦИИ И ФАКТОРЫ, КОНТРОЛИРУЮЩИЕ ОБМЕН ВЕЩЕСТВ

В 1945 г. Бидл [26] суммировал накопленные генетические и связанные с ними биохимические данные и выдвинул общую гипотезу о взаимоотношении наследственности с биохимическими процессами. Он формулировал ее следующим образом:

«Желательно создать гипотезу, вокруг которой можно объединить различные наблюдения и соображения относительно природы генов и их действия. Формулировка такой гипотезы предпринята с учетом того, что противоположные точки зрения не только возможны, но и, по крайней мере в некоторых отношениях, в равной степени правдоподобны.

Для того чтобы существовать как таковые, гены, несомненно, должны обладать способностью вызывать образование точных копий самих себя... Кроме катализа образования большого числа подобных себе единиц, гены, как правило, обладают гетерокаталитическими свойствами, т. е. способны катализировать образование других веществ... Определяя специфические химические, а возможно, и физические конфигурации молекул белка, гены непосредственно определяют специфичность ферментов и тем самым контролируют первоначальный ферментативный синтез и другие химические реакции, протекающие в организме... Каждый из этих тысяч типов генов обладает, как правило, уникальной специфичностью. Это означает, что конечная специфичность какого-либо определенного фермента обычно обусловлена одним и только одним геном.

Если мутационное изменение уничтожает способность гена к автокатализу, то ген оказывается необратимо утраченным. С другой стороны, если ген теряет свои гетерокаталитические свойства, то он остается геном, но в той мере, в какой эти свойства связаны с его действием на организм, ген теряет свою активность... Другие типы мутаций, существование которых можно предполагать, приводят к ослаблению, а не к уничтожению гетерокаталитических свойств (гипоморфы), к увеличению эффективности гетерокатализа (гиперморфы) и, наконец, к возникновению таких аллеломорфов, при которых происходит скачкообразное изменение одной специфичности гетерокатализа на другую (неоморфы)».

Позднее Бидл [27] изменил гипотезу в одной из ее главных частей, сделав указание, что ген может осуществлять свое первич-

генов? Являются ли вещества, известные нам в изолированном состоянии, одинаковыми по структуре и действию с теми же самыми веществами *in vivo*?

4. Можно ли считать возникновение мутантного фенотипа в результате отсутствия или изменения свойств таких веществ, как ферменты, достаточным основанием для заключения о том, что вещества, образующиеся в нормальном состоянии, являются непосредственными продуктами действия гена?

5. Необходимо ли принимать, что все гены действуют при помощи одного и того же механизма?

Некоторые из этих вопросов ставились и обсуждались в данной книге выше, другие будут рассмотрены на следующих страницах. Многие из трудностей, встречающихся на пути создания ясной картины наследственности на биохимической основе, уже должны быть очевидны.

Нет сомнения в том, что тот раздел биохимии, в области которого необходимо иметь большее количество данных для того, чтобы получить ответы на многие из поставленных вопросов, касается природы, биохимического синтеза и судьбы факторов, осуществляющих контроль над процессами обмена веществ, т. е. тех факторов, которые осуществляют описанное выше гетерокаталитическое действие. Хотя это относится и к малым молекулам, тем не менее в первую очередь применимо к большим молекулам, образующим ферменты и ферментные комплексы или единицы, не носящие характер катализаторов, но влияющие на скорости реакций. Как указано выше, такие единицы могут быть непосредственными продуктами действия генов, однако вероятно также, что многие из веществ, с которыми мы работаем в лаборатории, возникают в результате взаимодействия этих единиц без непосредственного участия генов. Было замечено, например, что свободные от клеток препараты растворимых ферментов способны включать в белки аминокислоты, меченные изотопами (см. табл. 21, гл. VI). На этом основании Борсук и Диззи [60] делают в высшей степени вероятное заключение, что включение в белки взрослых клеток аминокислот, меченных изотопами, не обязательно связано с непосредственным участием ядра. Это важное предположение подтверждается другими, менее прямыми путями и, вероятно, применимо также и к макромолекулам небелковой природы, таким, как нуклеиновые кислоты и полисахариды. Некоторые важные экспериментальные факты, относящиеся к неядерным превращениям внутриклеточных катализаторов, рассматриваются в следующем разделе о природе макромолекул, который по необходимости является кратким.

МАКРОМОЛЕКУЛЫ

Молекулярный вес молекул, имеющих биологическое значение, колеблется в очень широких пределах, от 2,016 для H_2 до нескольких миллионов у некоторых сложных белков; полисахаридов и нук-

леиновых кислот. Вообще говоря, одни и те же типы химических связей найдены в малых и больших молекулах, и в действительности большинство высокомолекулярных соединений построено из хорошо известных единиц низкомолекулярных веществ, связанных в цепь или в решетку. Невозможно указать нижний предел молекулярного веса, при котором соответствующие вещества относятся к макромолекулярным. Рибонуклеиновые кислоты с молекулярным весом, достигающим всего лишь нескольких тысяч, обычно включаются в эту категорию веществ. Все изученные до сих пор ферменты представляют собой макромолекулы. Поверхности молекул таких веществ благодаря их величине, гибкости длинных цепей и присутствию большого числа функциональных групп могут быть ориентированы в пространстве различным образом. Кроме того, вследствие внутримолекулярных притяжений крупные молекулы могут принимать специфические конфигурации поверхности, что, по-видимому, имеет существенное значение для их биологических функций.

Совершенно очевидно, что одной из важнейших сил, действующих при образовании и сохранении таких специфических конфигураций поверхности, а также и при определении других свойств молекул, имеющих важное биологическое значение, являются водородные связи или водородные мостики. Этот тип химической связи, безусловно, не ограничен макромолекулами. Она возникает между водородом и всеми наиболее электроотрицательными элементами. Например, при обыкновенных температурах благодаря водородным связям H_2O существует в высшей степени связанном состоянии. Обсуждение этого вопроса см. у Паулинга [478]. Таким образом, водород образует достаточно стойкие мостики между большим числом простых и сложных молекул. Особо важное значение в биохимии имеют связи: $-\text{O}-\text{H}-\cdots-\text{O}=\text{}$, как в воде, перекисях, спиртах, кислотах и т. д., и $-\text{N}-\text{H}-\cdots-\text{O}=\text{}$, как в глицине, мочеvine и пептидах (фиг. 39). Эти вторичные связи имеют в основном ионный характер, причем их энергия связи равна примерно 5 ккал/моль по сравнению с 110 и 83 ккал/моль соответственно для связей $\text{O}-\text{H}$ и $\text{N}-\text{H}$.

Кроме водородных связей, макромолекулы образуют другие межмолекулярные связи, в том числе такие, как дисульфидные, солевые между функциональными группами и координационные комплексы между функциональными группами и ионами металлов. Общая структура крупных молекул, создаваемая в результате различного типа взаимодействий, зависит, безусловно, в равной мере как от относительного расположения взаимодействующих групп, так и от физических и химических условий среды.

Основываясь на определении межатомных расстояний и углов между связями в аминокислотах и простых пептидах, Паулинг, Кори и Бренсон [480] высказали предположение о структуре некоторых белковых волокон, в которых пептидные цепи образуют тугие спирали, сохраняемые при помощи водородных связей между перио-

дическими контини
юкискт, сохржа
в радиальном напр
цепью, причем на

O

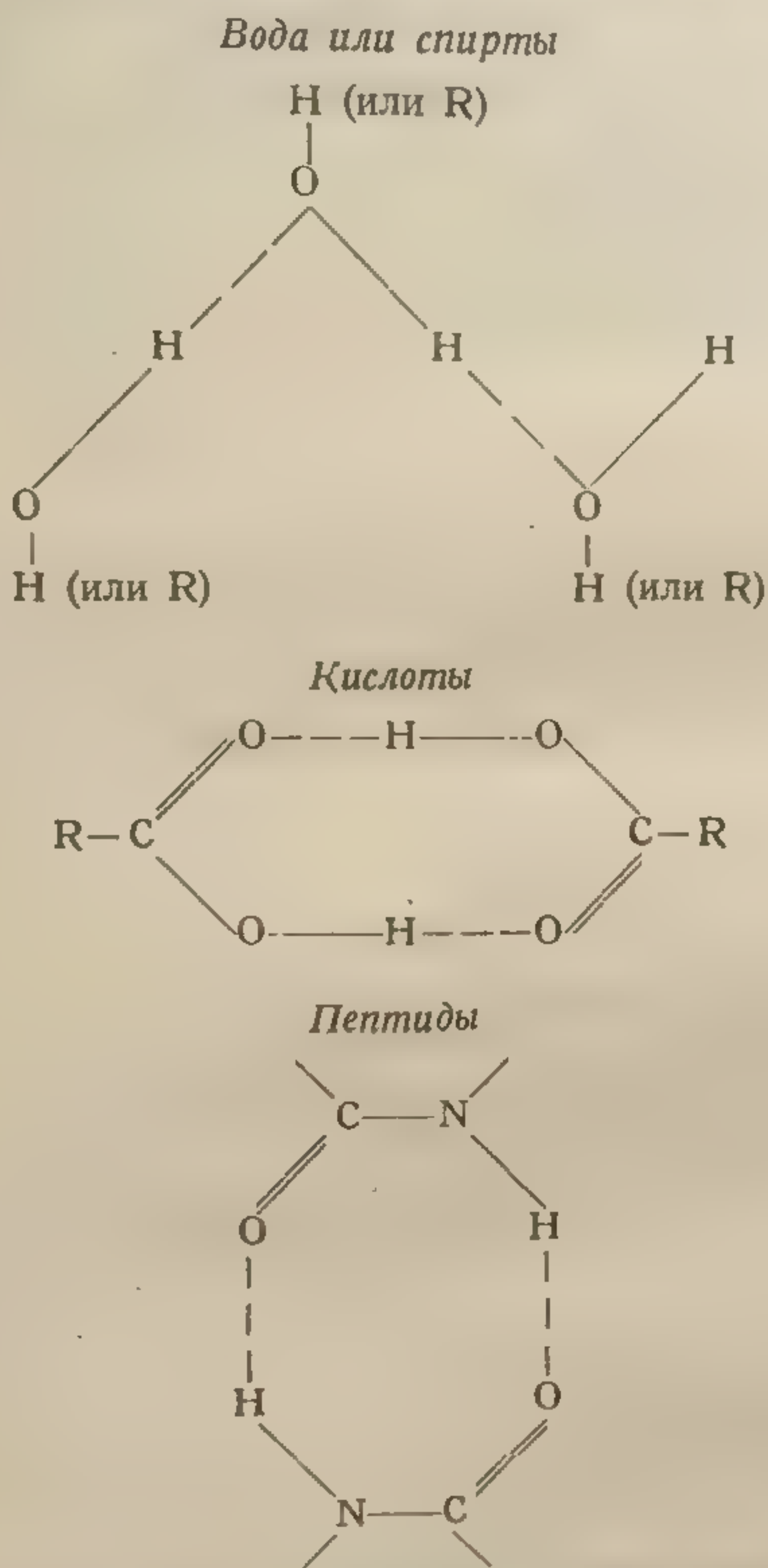
H (и

R—

Фиг. 39. Р

связью служит —
Для других видов
разветвленные и пл
Структура глобул
всех белков в раств
проблеме, чем струк
можно лишь констат
ные, а вероятно, и д

дическими пептидными связями. В такой структуре R-группы аминокислот, содержащих разные функциональные группы, отходят в радиальном направлении от цилиндра, образуемого спиральной цепью, причем наиболее важной вторичной межмолекулярной



Ф и г. 39. Некоторые иллюстрации водородных связей
R—органический радикал

связью служит $=N-H \cdots O=$, т. е. водородная связь. Для других видов белков были предложены [479] некоторые разветвленные и плоские структуры.

Структура глобулярных белков и конъюгированных белков и всех белков в растворе представляет собой даже более сложную проблему, чем структура волокнистых белков. В настоящее время можно лишь констатировать, что в этих веществах существуют сходные, а вероятно, и добавочные виды межмолекулярных связей.

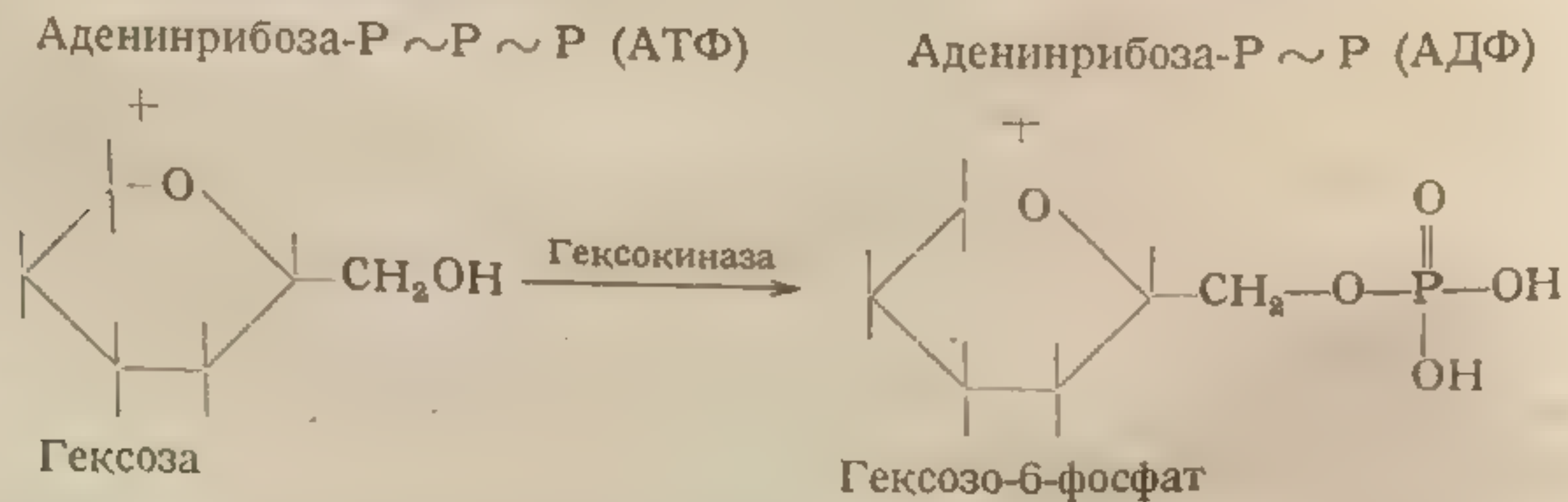
Суммируя проведенное выше обсуждение, можно сделать вывод, что вообще в макромолекулах существуют те же самые химические связи, которые наблюдаются внутри и между мелкими молекулами. Однако в результате существования в макромолекулах длинных цепей и взаимодействующих функциональных групп при помощи комбинации межмолекулярных и внутримолекулярных взаимодействий могут образовываться новые и особые специфические решетки кольцевых структур. Кажется несомненным, что именно наличие этих больших колец составляет основу биологической специфичности свойств макромолекул. Как особое расположение, так и сопровождающее его распределение электростатических зарядов связаны с явлением биологической специфичности.

Изменчивость видовых макромолекул

Хорошо известно, что ферменты, полученные от различных видов организмов, необязательно одинаковы даже в том случае, если они способны катализировать одни и те же реакции. Они могут отличаться не только по величине и свойствам белковых частей (апофермента), но и по свойствам наиболее специфичных функциональных частей, определяющих их соединение с субстратом и специфичность их взаимодействия с ним. Некоторые примеры таких различий приведены в табл. 22.

Другие примеры можно найти в работе Тинта и Рейсса [653]. Эти исследователи показали, что цитохромы с, полученные из сердечной мышцы быка, лошади, поросенка и цыпленка, значительно отличаются по электрофоретической подвижности. Сходный критерий использован для доказательства различий между видами в отношении гемоглобинов, альбуминов яйца и гемоцианинов.

Исследование Слейна, Кори и Кори [567] содержит некоторые интересные данные по гексокиназе различных животных тканей по сравнению с тем же самым ферментом дрожжей. Этот фермент катализует перенос фосфата от АТФ в шестое положение глюкозы, маннозы или фруктозы



В опытах употреблялся кристаллический фермент, полученный из дрожжей и частично очищенный, но соответствующим образом снова растворенный препарат из мозга овцы. Частично очищенные ферменты были получены также из мышц кролика и крысы и из

Некоторые виды

Фермент

Дегидраза глутаминовой кислоты

Дегидраза спирта

Дегидраза глюкозы

Печень

печени крысы. В остальных

следующие важные различия
1. Все препараты гексокиназы в присутствии ферментов, по фосфорилированию ростей в порядке фракционирования по соотношению.

3. Тот факт, что участвуют одни и те же ферменты, подавлению, проявлению обнаруживаются только другие сахара.

4. В отличие от дрожжей и из мозга, быка и крысы и из печени и из крови

Таблица 22

Некоторые видовые различия в кристаллических ферментах

Фермент	Происхождение фермента	Различия в активности фермента
Дегидраза глутаминовой кислоты	Дрожжи или <i>Escherichia coli</i>	Нуждается в ТПН в качестве акцептора водорода
	Высшее растение	Нуждается в ДПН в качестве акцептора водорода
	Животное	Нуждается в ТПН или ДПН в качестве акцептора водорода
Дегидраза спирта	Дрожжи	Полностью подавляется 0,001 М раствором йодацетата
	Животное	Не подавляется 0,01 М раствором йодацетата
Дегидраза глюкозы	<i>E. coli</i>	Подавляется толуеном
	Печень животного	Не подавляется толуеном
Пепсин	Бычий Свиной	Кристаллические продукты одинаковы как иммунологически, так и по растворимости. Однако в смеси их растворимости независимы (т. е. один белок может растворяться в насыщенном растворе другого белка)

печени крысы. В опытах с этими препаратами были установлены следующие важные факты:

1. Все препараты нуждаются для проявления активности гексокиназы в присутствии ионов Mg^{++} .

2. Ферменты, полученные из дрожжей и из мозга, вызывают фосфорилирование трех сахаров с определенным отношением скоростей в порядке фруктоза > глюкоза > манноза. Обширные опыты по фракционированию препаратов из мозга не изменили этого отношения.

3. Тот факт, что во всех ферментах (из дрожжей и из мозга) участвуют одни и те же реакционные группы, показан в опытах по подавлению, проведенных с этими тремя сахарами. Глюкоза и манноза обнаруживают взаимное подавление, в то время как фруктоза оказывает только слабое подавляющее действие на фосфорилирование других сахаров (общее подавляющее действие субстратов обсуждается на стр. 129).

4. В отличие от результатов, полученных с ферментами из дрожжей и из мозга, было обнаружено, что гексокиназы из мышц кролика и крысы и из печени крысы могут быть разделены на вещества, действующие на фруктозу или глюкозу, но не на оба сахара. Кроме

того, в опытах с ферментами из мышц и из печени не наблюдалось перекрестного подавления сахарами. В этом исследовании не использовались гексокиназы из мышц и мозга одной и той же особи, когда можно было бы ожидать генетической идентичности тканей. Тем не менее совершенно очевидно, что гексокиназы, полученные из разных источников, могут быть в основном идентичны у неродственных видов и совершенно различны в различных тканях родственных видов или одного того же вида. Конечно, вполне возможно, что ткани животных содержат несколько ферментов со сходной специфичностью, каждый из которых образуется под действием различных генов. Если это так, то тем самым создается основа для независимого контроля двумя генами одной и той же ступени химических реакций. Во всяком случае, такие результаты не соответствуют представлению о существовании простой и непосредственной связи между отдельными генами и единичными реакциями. Кроме того, эти опыты дают дальнейшее доказательство того, что молекулы фермента не обязательно должны быть идентичны, чтобы катализировать одну и ту же биохимическую реакцию.

Выше уже было упомянуто о том, что в кристаллической форме выделено свыше 50 ферментов. Хотя кристаллическое состояние не является достаточным критерием их чистоты, тем не менее оно служит некоторой основой для сравнения ферментов. Одна из важных проблем состоит в определении того, идентичны ли все молекулы фермента такой высокой степени очистки. Иначе говоря, должны ли обладать одинаковым химическим строением и конфигурацией поверхности все каталитически активные молекулы, действующие на один и тот же субстрат? В отношении ферментов, происходящих из разных организмов или даже из разных тканей одного и того же организма, можно считать совершенно несомненным, что молекулы не обязательно одинаковы.

В случае получения фермента из отдельной ткани проблема оказывается гораздо более сложной. Однако некоторые результаты исследований, проведенных с кристаллическим химотрипсином, достаточно показательны. Со времени выделения Кунитцем и Нортропом [457] этого фермента из бычьей поджелудочной железы рядом исследователей получены доказательства того, что этот фермент можно разделить по крайней мере на 6 компонентов, причем все они обладают одинаковой или, во всяком случае, сходной каталитической специфичностью. Обычно они вызывают гидролиз различных белков или некоторых простых пептидов, содержащих фенилаланин, тирозин, триптофан или метионин. Эти 6 компонентов (В, α , β , γ , δ и π -химотрипсины) различимы на основе одного или большего числа критериев, в том числе растворимости, подвижности в электрическом поле, относительных скоростей реакций с различными субстратами и химического строения.

Совершенно очевидно, что все эти компоненты (а существуют указания на то, что их больше) различны, хотя и близко родственны химически. Нельзя утверждать, что такая очевидная множествен-

ность молекул
среди ферментов
артефактом. Воз-
можно существо-
вание фермента
сродственного стро-
ения, чтобы сох-
ранить дальнейшее обу-
стройство.

Следует, кро-
ме естественной изм-
енности химическ-
их свойств м-
по ацетилирован-
ию. Кетон реак-
ции пепсина содер-
жит ацетилирован-
ие, не содержащее
вещество облада-
ющее исходный пепсин
и имеет активность
активность до м-
что реакция в ве-
зана с ацетилиро-
эксперименты дру-
ство того, что м-
фичные и неспе-
строения, а может
ных изменений к

БИОЛ

Существует пр-
молекулы или их
средственные про-
лекулами. Прини-
средственное уча-
ствия, неизвестно
прямых доказате-
более разумным
же общие принци-
паду как небольшо-
Выше уже был
трации соедине-
балансом между
распада вещества
реакция, приводя-
одна реакция, в
сторону

ность молекулярного строения представляет собой общее явление среди ферментов. (Неизвестно даже, нельзя ли считать это явление артефактом, возникающим в процессе выделения фермента.) Тем не менее существует мало оснований для сомнений в том, что молекулы фермента не обязательно должны иметь только одно-единственное строение или общую конфигурацию поверхности для того, чтобы сохранять данную каталитическую активность. (См. дальнейшее обсуждение на стр. 168—169.)

Следует, кроме того, добавить, что, помимо отмеченной выше естественной изменчивости молекул белка, можно получить несомненные химические изменения ферментов без нарушения каталитических свойств молекул. Херриотт и Нортроп [457] провели опыты по ацетилированию пепсина при помощи обработки фермента кетеном. Кетен реагировал с $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$ и $-\text{SH}$ -группами белка. Пепсин содержит 3 или 4 свободных $-\text{NH}_2$ -группы, и осторожное ацетилирование дает кристаллическое триацетильное производное, не содержащее обнаружимых незамещенных $-\text{NH}_2$ -групп. Это вещество обладает такой же каталитической активностью, как и исходный пепсин. Введение примерно 10 ацетильных групп уменьшает активность до 60%, а добавление 20 или более уменьшает активность до менее чем 10% исходной. Представляется вероятным, что реакция в веществе, имеющем 60-процентную активность, связана с ацетилированием фенольной группы тирозина. Эти и сходные эксперименты других исследователей дают дальнейшее доказательство того, что молекулы фермента содержат относительно специфичные и неспецифичные части, и поддающиеся оценке изменения строения, а может быть, и структуры молекул возможны без заметных изменений каталитической активности.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ МАКРОМОЛЕКУЛ

Существует предположение, что гены представляют собой макромолекулы или их конгломераты. Предполагают также, что непосредственные продукты действия генов тоже являются макромолекулами. Принимают ли какие-либо небольшие молекулы непосредственное участие в образовании генов или продуктов их действия, неизвестно. Во всяком случае, до тех пор пока не получено прямых доказательств противоположного, представляется наиболее разумным принять точку зрения, согласно которой одни и те же общие принципы применимы к биологическому синтезу и распаду как небольших, так и крупных молекул.

Выше уже было отмечено, что наличие в клетке данной концентрации соединения, имеющего простую молекулу, определяется балансом между скоростью образования этих молекул и скоростью распада вещества. Для простых молекул существует только одна реакция, приводящая к образованию данного вещества, и только одна реакция, в результате которой оно расщепляется. С другой стороны, для синтеза или расщепления сложных молекул необ-

ходимо, очевидно, много реакций, идущих последовательно или параллельно. Более того, кажется естественным принять концепцию, согласно которой природа продукта является функцией совокупности процессов, в результате которых он создается или разрушается. В отношении макромолекул, которые могут образовывать активные конфигурации поверхности, можно предполагать, что данная конфигурация является результатом или исключительно частоты и порядка реакций синтеза и расщепления, или организующих влияний молекул окружающей среды, как в случае образования антител, или, наконец, обоих влияний. Все аспекты динамического состояния должны быть включены в окончательное описание биосинтеза макромолекул.

Эта общая точка зрения, подчеркивающая взаимодействие и взаимную зависимость молекул в биологических системах, особенно хорошо выражена Клодом [109]: «В свете уже известных биохимических процессов очевидно, что удвоение существенных и характерных для клетки веществ представляет собой результат строго направленных цепей реакций. Конечный продукт в свою очередь в некоторый момент принимает участие в реакциях и тем самым определяет специфичность этого или других взаимодействующих биохимических циклов. Специфичность гена не является более строгой, и, вероятно, ее труднее объяснить, чем структурную и функциональную специфичность протеолитического фермента или полисахарида. Таким образом, термин «самоудвоение» кажется не имеющим смысла в приложении к таким сложным, но в то же время высокоорганизованным циклическим биохимическим процессам, приводящим к образованию новых клеточных веществ и к реципрокному действию, которое они могут оказывать на производящую их систему».

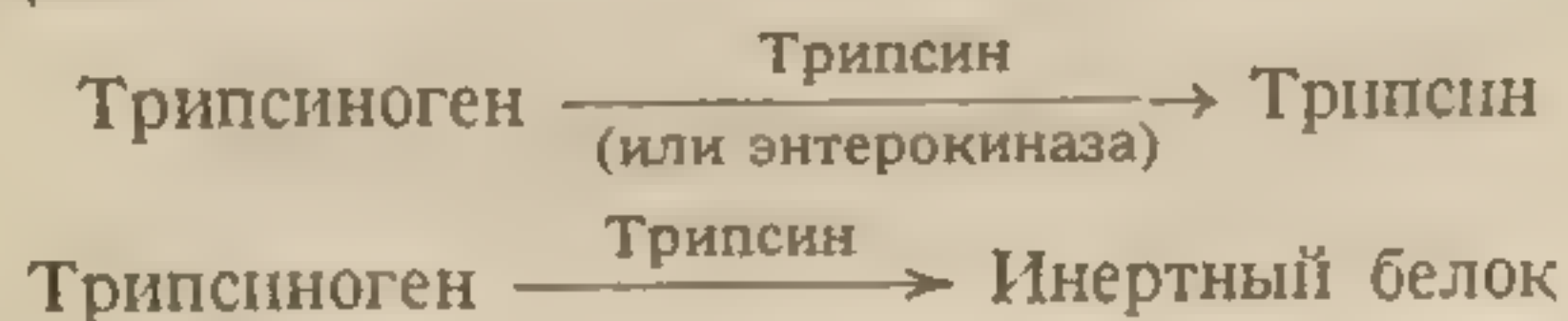
Из изложенной выше точки зрения следует, что замечательная стабильность хромосомной наследственности является результатом только очень строгого ограничения баланса и сложности взаимосвязанных скоростей реакций. Внутриклеточная топография также может быть важным фактором как в процессах синтеза, так и при расщеплении и приводит к сохранению в клетке веществ, которые разрушались бы быстрее, чем могли бы образовываться в клетке, если бы она представляла собой мешок, содержащий беспорядочную смесь ферментов.

Следует подчеркнуть, что предыдущее обсуждение основано на теоретических соображениях, а не на экспериментальных фактах. Ничего неизвестно ни о механизме воспроизведения гена, ни о механизмах непосредственного действия генов. Существует, однако, ограниченное количество данных относительно биологического синтеза ферментов.

Возможно, что некоторые ферменты представляют собой непосредственные продукты действия гена, однако совершенно очевидно, что некоторые из них не являются таковыми. Главным образом в результате работы Нортропа и его сотрудников [457] было показано,

что ряд ферментов, катализирующих гидролиз белков, существует как таковые в тканях в форме каталитически неактивных белков. Эти вещества (зимогены) могут превратиться в ферменты при соответствующей обработке ферментами. Таким образом, очевидно, что эти вещества являются предшественниками ферментов, и их можно считать промежуточными продуктами при биологическом синтезе ферментов, в которые они превращаются. Наилучшим образом известны следующие зимогены — трипсиноген, химотрипсиноген и пепсиноген. Все они являются белками с довольно сходным составом элементов. Молекулярный вес пепсиногена заметно больше, чем пепсина (молекулярный вес пепсиногена $42\,000 \pm 3000$; пепсина — $38\,000 \pm 3000$).

Выделенный трипсиноген содержит примесь ингибитора, предотвращающего превращение зимогена в трипсин, если он присутствует в достаточно высокой концентрации. Если добавить к трипсиногену трипсин, то, согласно имеющимся данным, происходят следующие реакции:



Реакцию поэтому можно рассматривать как автокаталитическую, однако усложненную вторичной реакцией. Превращение происходит также и при воздействии другого фермента поджелудочной железы — энтерокиназы или при воздействии фермента из гриба *Penicillium*. Высокие концентрации сульфатов магния и аммония также ускоряют реакцию. Природа изменения, происходящего при превращении зимогена в фермент, неизвестна, однако можно предполагать, что оно связано с гидролизом пептидной связи.

Химотрипсиноген превращается в химотрипсин под действием трипсина, так что эта реакция не является автокаталитической. Якобсен [313] получил данные, свидетельствующие о том, что при низкой температуре разрывается одна пептидная связь, причем образуется π -химотрипсин, который в 2—2,15 раза активнее, чем α -химотрипсин. При дальнейших реакциях разрываются последовательно одна или три другие пептидные связи, причем получают соответственно δ - и α -химотрипсин. Два вероятных промежуточных продукта π и δ не были выделены, тогда как конечный продукт α получен в кристаллической форме.

Пепсиноген может быть превращен в пепсин под действием кислоты, однако было показано, что катализ при помощи H^+ мало эффективен. Были проведены эксперименты, показавшие, что значительно более эффективный катализ реакции происходит при воздействии самого пепсина. В процессе реакции от пепсиногена отщепляется примерно 15% белкового азота, в результате чего образуются пепсин и основной полипептид с молекулярным весом около 1000. Возможно, что удаляются также отдельные аминокислоты. Образующийся полипептид представляет собой ингибитор действия

пепсина, он остается связанным с ферментом при pH выше 5,4. Он разрушается при длительном хранении с пепсином, но может быть отделен от фермента на основе различий в растворимости.

Следует особенно отметить несколько интересных моментов относительно зимогенов. Во-первых, невероятно, чтобы как зимоген, так и фермент были непосредственными продуктами действия гена. Более правдоподобно предположение, что по крайней мере эти ферменты образуются в результате ряда реакций, возможно, начинающихся с непосредственного продукта действия гена. Такой механизм, без сомнения, приложим к различным непрямым эффектам, возникающим в результате генных мутаций. Во-вторых, следует отметить, что из пепсиногена образуются два вещества, имеющих биологическое значение, — пепсин и ингибитор пепсина. Неизвестно, оказывает ли ингибитор какое-либо другое действие, помимо подавления действия пепсина, однако любая мутация, ведущая к увеличению или уменьшению скорости его разрушения, легко может быть истолкована как прямое действие на процесс образования пепсина. В-третьих, работа с зимогенами дает дальнейшее подтверждение того, что небольшие изменения макромолекулы могут приводить к очень большим изменениям их специфичности.

К сожалению, существует очень мало данных относительно биосинтеза ферментов иного рода, чем обсуждавшиеся выше. Одной из причин столь незначительного прогресса в этой области исследования является отсутствие методов выделения и идентификации промежуточных продуктов с молекулами среднего размера. Можно ожидать, что в связи с широким использованием методов хроматографии и изучения распределения радиоактивности при помощи счетчиков эта очень важная область исследования будет развиваться быстрее. Ряд экспериментов, проведенных в этом направлении, хорошо выявляет специфическую природу проблемы. Так, например, Борсук и сотрудники [62] показали, что радиоактивные аминокислоты очень быстро включаются срезами печени и гомогенатами в один или большее число довольно крупных полипептидов. Затем аминокислоты включаются более медленно в тканевые белки. Эти и близкие к ним исследования показывают, что синтез белков и обмен аминокислот в белках могут происходить в результате обмена отдельных аминокислот и даже довольно крупных пептидов без потери непрерывности молекулами белка. Данные о каталитической функции ферментов в течение динамического обмена аминокислотных компонентов, который, очевидно, происходит *in vivo*, отсутствуют. Можно предполагать, что фермент, выделенный в чистом виде, содержит только те молекулы, которые существуют в момент выделения в достаточно целых структурах, чтобы обнаруживать каталитическую активность. На этих основаниях можно сделать вывод, что *in vivo* катализируемые ферментами реакции должны быть более сложными и подвергаться влиянию большего числа внешних факторов, чем реакции, протекающие в изолированных системах, где сам катализатор относительно стабилен.

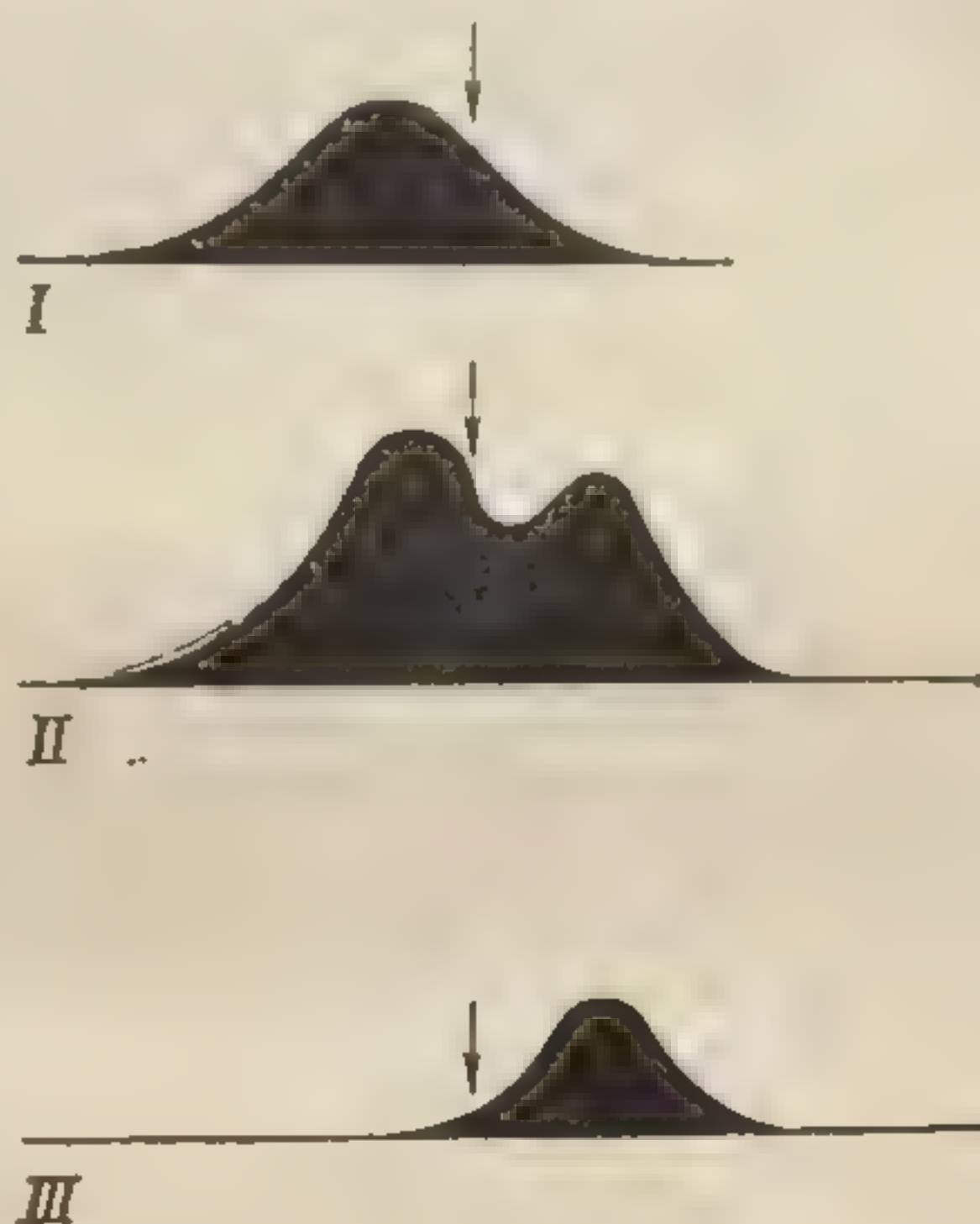
Наиболее изысканно
молекулы, происхо
проведено Паулинго
ной анемии. Пример
приобретают странну
крови содержится в
большого процента
тяжелая и безуслов
анемии. Более легки
зни не сопровожда
тяжелыми проявлени
чан описываются ка
клеточность; более
болезни называется
точной анемией. Сог
Нила [453], обе болез
ся одним мутантным
рому гомозиготны
наруживающие сер
ную анемию, и гетер
низмы, страдающие
точностью.

Исследования Па
и сотрудников [481]
образование серпов
можно предотвратит
кислорода или ок
Был приготовлен кар
бин из крови здо
больных серповидно
серповидноклеточно
проведено сравнени
тической подвижнос
в фосфатном буфер
кисегемоглобин дви
ветствующее веществ
серповидноклеточно
Кровь людей с сер
(см. фиг. 40), из ни
мального. Разница
карбоксигемоглобин
наруженная в изоэл
2-4 добавочных п
ного белка по срав
зависит от порфир
эти вещества, выде
вания показали, что

Наиболее изящное исследование изменения биосинтеза макромолекулы, происходящего в результате генетического изменения, проведено Паулингом и другими [481] в случае серповидноклеточной анемии. Примерно у 8% американских негров эритроциты приобретают странную серповидную и другие формы, если проба крови содержится в изолированной камере в течение 72 час. У небольшого процента людей (вероятно, около 2%) была обнаружена тяжелая и безусловно летальная анемия. Более легкие формы болезни не сопровождаются такими тяжелыми проявлениями. Эти случаи описываются как серповидноклеточность; более тяжелая форма болезни называется серповидноклеточной анемией. Согласно данным Нила [453], обе болезни определяются одним мутантным геном, по которому гомозиготны организмы, обнаруживающие серповидноклеточную анемию, и гетерозиготны организмы, страдающие серповидноклеточностью.

Исследования Паулинга, Итано и сотрудников [481] показали, что образование серповидных клеток можно предотвратить при помощи кислорода или окиси углерода. Был приготовлен карбоксигемоглобин из крови здоровых людей, больных серповидноклеточностью и серповидноклеточной анемией, и проведено сравнение электрофоретической подвижности белков. Было обнаружено, что при pH 6,9

в фосфатном буфере с ионной силой 0,1 нормальный карбоксигемоглобин движется как отрицательный ион, тогда как соответствующее вещество, полученное из крови человека, больного серповидноклеточной анемией, движется как положительный ион. Кровь людей с серповидноклеточностью содержит оба компонента (см. фиг. 40), из них патологический составляет около 60% нормального. Разница между нормальным карбоксигемоглобином и карбоксигемоглобином больных серповидноклеточной анемией, обнаруженная в изоэлектрической точке (0,22), соответствует наличию 2—4 добавочных положительных зарядов в молекуле ненормального белка по сравнению с нормальным белком. Это различие не зависит от порфиринового компонента гемоглобинов, поскольку эти вещества, выделенные из двух сортов гемоглобинов в форме эфиров, оказались одинаковыми. Электрофоретические исследования показали, что нативные глобины здоровых людей и больных



Фиг. 40. Электрофореграммы, характеризующие карбоксигемоглобины из эритроцитов здоровых людей и больных серповидноклеточностью и серповидноклеточной анемией [481].

I — норма, II — серповидноклеточность
III — серповидноклеточная анемия.

серповидноклеточной анемией, безусловно, различны [265]. Таким образом, это изменение в глобиновой части плюс или минус кислород, очевидно, изменяет структуру эритроцитов *in vivo* — положение, которое еще раз подчеркивает значение ориентации макромолекул в отношении любой другой макромолекулы.

Кроме случая обсуждавшейся выше серповидноклеточной анемии, существуют другие близкие к ней заболевания, влияющие на строение гемоглобина [311]. В табл. 23 приведены некоторые из них и указаны типы гемоглобинов, которые встречаются у лиц, страдающих этими болезнями. Выделение ненормальных гемоглобинов проводилось при помощи физических и химических методов, подобных описанным для случая гемоглобина больных серповидноклеточной анемией. На основании данных табл. 23 можно отметить, что больные, страдающие серповидноклеточной анемией, содержат гемоглобины эмбрионального типа (*f*), так же как и *b* типа, характерного как для больных серповидноклеточностью, так и анемией.

Таблица 23

Типы гемоглобинов, характерные для некоторых, по-видимому, наследственных болезней человека

Состояние организма	Типы гемоглобинов				
	<i>a</i> (нормальный взрослый)	<i>b</i> (серповидноклеточность)	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>f</i> (нормальный эмбриональный)
Нормальный взрослый	+	—	—	—	—
Нормальный новорожденный	+	—	—	—	+
Обладатели серповидных клеток	+	+	—	—	—
Больные с серповидноклеточной анемией	—	+	—	—	—
Обладатели гемоглобина <i>c</i>	+	—	+	—	—
Больные, обладающие гемоглобином <i>c</i> и серповидными клетками	—	+	+	—	—
Обладатели гемоглобина <i>d</i>	+	—	—	—	—
Больные, обладающие гемоглобином <i>d</i> и серповидными клетками	—	+	—	+	—
Thalassemia minor	+	—	—	—	±
» major	+	—	—	—	—

В этих, а вероятно, и в других случаях, которые будут рассмотрены ниже, возможность ориентации должна быть наследственным свойством самих молекул; однако трудно сказать, является ли эффект непосредственным или же в образовании организованных структур участвуют какие-либо другие типы молекул. Эти исследования гемоглобина показывают типы изменений макромолекул, которые могут возникать в результате очевидных мутаций одного гена (по крайней мере в случае серповидноклеточной анемии). Эффект такого изменения оказывает повреждающее действие на орга-

низм, однако с...
ные показываю...
и только одно...
необходимой д...
стима известна...
случае, так и в...
нения в резуль...
ным образом в...
Иначе говоря, ...
и ненормальны...
тами в серии...
эритроцитах, и...
жучных про...
цитов.

В самом на...
связывающих...
необходимо ко...
тельств того, ч...
посредственный...
торые из рассм...
бот можно исто...
вании такой не...
можно против...
Как указывало...
связана с тем,...
изучены биохим...
ный ген контр...
ходимо иметь...
отдельных фер...
нимаются как...
тических един...
псевдоаллелях...
дельного ферм...
казало, что он...
этого можно с...
1. Фермент...
зован при пом...
тельно иденти...
ствовать в кле...
имеющем знач...
претерпевает...
частей со схо...
среде.
2. Макром...
каталитическ...
случае их по...

низм, однако оно не является непосредственно летальным. Эти данные показывают, что существование организма не зависит от одной и только одной химической конфигурации каждой макромолекулы, необходимой для прохождения процессов обмена веществ. Допустима известная степень изменчивости макромолекул. Как в этом случае, так и в других невозможно установить, возникают ли изменения в результате непосредственного действия гена или косвенным образом в результате изменений обмена веществ продуктов гена. Иначе говоря, представляется вероятным, что как нормальные, так и ненормальные гемоглобины являются промежуточными продуктами в серии реакций, происходящих во всех примордиальных эритроцитах, и действие мутации заключается в изменении промежуточных продуктов, накапливающихся при образовании эритроцитов.

МУТАЦИИ И ОТДЕЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ

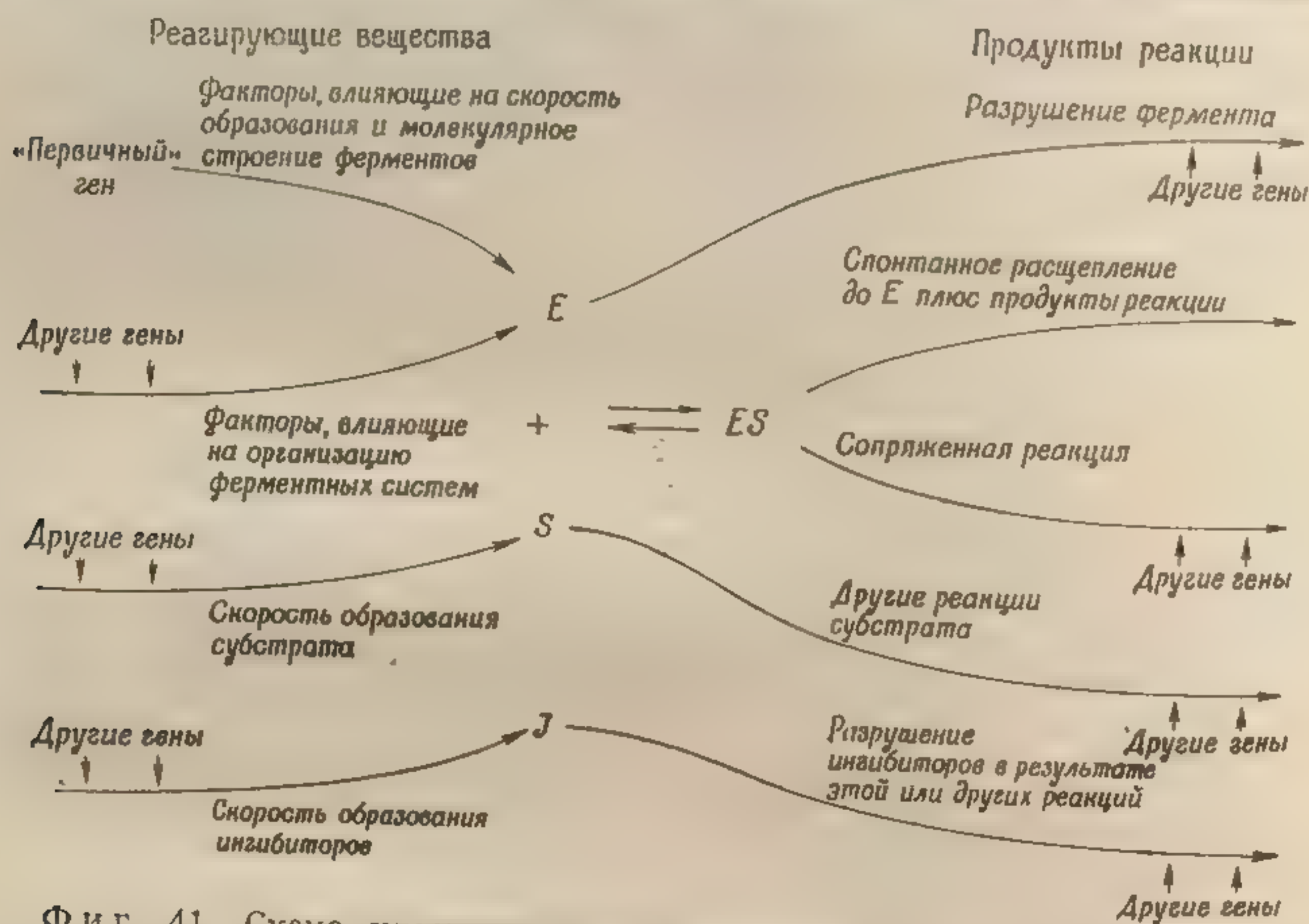
В самом начале этого обсуждения экспериментальных данных, связывающих мутационные изменения с изменениями ферментов, необходимо констатировать отсутствие экспериментальных доказательств того, что какой-либо один фермент представляет собой непосредственный продукт действия какого-либо одного гена. Некоторые из рассматриваемых в данной книге экспериментальных работ можно истолковать как подтверждение заключения о существовании такой непосредственной связи, однако в каждом случае возможно противоположное и в равной мере вероятное объяснение. Как указывалось выше, главная трудность в решении этого вопроса связана с тем, что сами гены и ферменты еще недостаточно хорошо изучены биохимически, а для того, чтобы установить, что определенный ген контролирует образование определенного фермента, необходимо иметь полное представление о природе отдельных генов и отдельных ферментов. В настоящее время гены еще совсем не понимаются как биохимические единицы, а их определение как генетических единиц является еще далеко не полным (см. стр. 247 о псевдоаллелях). В отношении соответствующего определения отдельного фермента обсуждение в гл. VI и в начале этой главы показало, что оно также исключительно трудно. Некоторые причины этого можно суммировать следующим образом:

1. Фермент, который может быть выделен *in vitro* и охарактеризован при помощи физических и химических критериев, не обязательно идентичен с тем же самым ферментом *in vivo*. Он может существовать в клетке в комбинации с другими ферментами и в состоянии, имеющем значение для его действия. Кроме того, в клетке фермент претерпевает динамический взаимный обмен составляющих его частей со сходными частями в окружающей его биохимической среде.

2. Макромолекулы, обладающие тем же самым или сходным каталитическим действием, иногда оказываются различными, даже в случае их получения из одной и той же ткани. Как отмечено в про-

веденном выше обсуждении, фермент, выделенный из различных тканей с одинаковой генетической конституцией, может обладать различной каталитической специфичностью и различными физическими и химическими свойствами.

Кроме этих вопросов, связанных с природой генов и ферментов, истолкование экспериментальных данных, связывающих эти два типа физиологических единиц, зависит также от понимания



Фиг. 41. Схема, иллюстрирующая некоторые факторы генетического происхождения, которые влияют на скорости реакций.

взаимозависимости и баланса биохимических реакций, протекающих в исследуемых клетках. Неприемлемое упрощение представляет собой сосредоточение внимания исключительно на отдельном ферменте и части реакций, которую он способен катализировать, без учета всех компонентов реакции. Иначе говоря, прежде чем можно будет понять физиологический результат мутации и прежде чем будет определена связь генов с ферментами, должны быть известны все реагирующие вещества, включая катализатор, а также все продукты реакций.

В качестве основы для практической оценки экспериментальной работы, проведенной по проблеме взаимоотношений генов и ферментов, предпринята попытка суммировать наиболее важные факторы, способные влиять на ход реакции. Результаты представлены на фиг. 41. Очевидно, если мутация разрушает ген, связанный с образованием E, то фермент не образуется в организме, и реакция не будет идти, если не будет присутствовать катализатор иного происхождения. Этот случай представляет собой наиболее резко выраженный единичный результат мутации, который может наблю-

даться при потере гена. С другой стороны, фермент, могут влиять уменьшения ее до нулевого допустимого условия. Эффекта мутации на фермент для сравнения используется.

В качестве примера приводит к прекращению реакции той реакции, фермент может не образовать продукта гена. Однако первичного или вторичного или силы, контрпродукта или субстрата не образует ингибитор реакции. реагирующих веществ вызвано изменением на фермент, субстрат. Наконец, реакция комбинаций этих влияний на скорость роста за исключением случаев отметить, что в дальнейшем нельзя обнаружить по отношению к одной из совершенно очевидно нельзя отнести к возникшей в результате показано, что многие ткани.

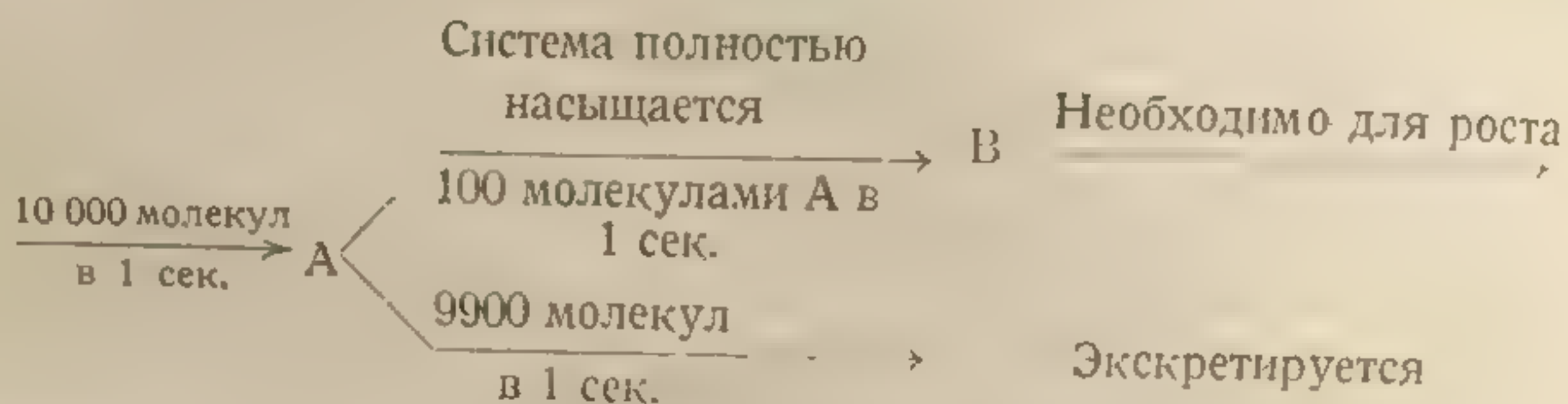
При рассмотрении пытаются классифицировать кажущегося при активности фермента такие, когда мутация ниже уровня, который аналитических методов по крайней мере по ферментами, обладающими мощи большинства меньших концентраций. Таким образом, не только можно констатировать, что подобная может быть указана фенотипическая, которая основаны

даться при потере гена в результате возникновения хромосомной нехватки. С другой стороны, иные факторы, помимо утраты фермента, могут влиять на скорость реакции в любой степени: от уменьшения ее до нуля и до увеличения до некоторого максимума, допустимого условиями реакции. Отсюда следует, что анализ эффекта мутации на фермент крайне сложен, если в качестве основы для сравнения используются каталитические свойства фермента.

В качестве примера рассмотрим эффект мутации, которая приводит к прекращению роста организма вследствие того, что не происходит той реакции, какая приведена на фиг. 41. В этом случае фермент может не образоваться потому, что не образуется первичный продукт гена. Однако фермент может быть также изменен действием первичного или вторичного генов так, что: 1) не образуются вещества или силы, контролирующие ориентацию фермента в клетке; 2) субстрат не образуется с достаточной скоростью или 3) образуется ингибитор реакции. В дополнение к этим возможным изменениям реагирующих веществ изменение скорости реакции может быть вызвано изменением сопряженной или другой реакции, влияющей на фермент, субстрат или ингибитор, как это показано на фиг. 41. Наконец, реакция может не происходить в результате некоторых комбинаций этих влияний. Недостаточная или иным образом измененная скорость роста может объясняться аналогичным образом, за исключением случая потери первичного гена. Следует заранее отметить, что в дальнейшем описании экспериментальных данных нельзя обнаружить примеров, которые можно было бы без сомнения отнести к одной из указанных выше категорий (или на фиг. 41). Совершенно очевидно, однако, что значительное число примеров нельзя отнести к категории, представленной утратой фермента, возникшей в результате потери первичного гена, так как было показано, что многие из исследованных катализаторов не утрачены тканью.

При рассмотрении этих экспериментальных примеров иногда пытаются классифицировать их, исходя из сомнительных оснований кажущегося прямого или непрямого генетического влияния на активность фермента, т. е. принимают за случаи прямого действия такие, когда мутация вызывает уменьшение активности фермента ниже уровня, который можно обнаружить при помощи имеющихся аналитических методов. Такая классификация не оправдывается по крайней мере по одной важной причине. Даже при работе с ферментами, обладающими высокой скоростью обновления, при помощи большинства аналитических методов нельзя обнаружить меньших концентраций фермента, чем 10^{10} молекул фермента на 1 мл. Таким образом, нельзя утверждать, что фермент отсутствует, а можно лишь констатировать, что его концентрация не превышает ту, которая может быть установлена методом анализа. Классификация, подобная указанной выше, еще менее допустима, когда она применяется к фенотипическим эффектам мутаций иного типа, чем те, которые основаны на активности фермента. Рассмотрим гипотети-

ческий пример, в котором в качестве критерия эффекта мутации используется скорость роста, предположив при этом, что нормально организм вырабатывает вещество А со скоростью 10 000 молекул в 1 сек. Вещество А превращается в необходимое для роста вещество В, которое, кроме того, экскретируется, как это показано на следующей схеме:



Если ферментная система, вырабатывающая вещество В, полностью насыщается 100 молекулами вещества А в 1 сек., то образование вещества А может быть уменьшено в результате наследственного изменения в 100 раз без заметного изменения скорости роста организма. С другой стороны, дальнейшее 10-кратное сокращение скорости образования вещества А, т. е. изменение меньшего масштаба, чем первое, может довести скорость роста организма до ничтожной величины. Проводилось очень мало экспериментов, направленных на анализы подобных явлений, или они вовсе отсутствовали. Тем не менее, по-видимому, существуют случаи, принципиально сходные с только что описанным гипотетическим примером. В гл. VIII отмечены результаты влияния введения некоторых мутантных генов на накопление некоторых соединений мутантами *Neurospora*, нуждающимися в аденине (стр. 214), уридине (стр. 217) и гистидине (стр. 206).

Ферментативное расщепление гомогентиизиновой кислоты у человека

Гарро [192] описал у человека нарушение обмена веществ, известное как алькаптонурия, которое не сказывается неблагоприятно на лицах, у которых оно обнаруживается, но вызывает почернение мочи на воздухе. Получены данные, свидетельствующие о том, что этот признак наследуется как один рецессивный ген. Вещество в моче людей, страдающих алькаптонурией, которое образует черный пигмент, представляет собой 2,5-диоксифенилуксусную или гомогентиизиновую кислоту. Было показано, что при даче этого вещества здоровым людям оно не обнаруживается в их моче. Гросс [233] исследовал ферментную основу этого явления, употребляя сыворотку крови от ряда здоровых и страдающих алькаптонурией людей. Его опыты, проведенные в 1914 г., по-видимому, представляют собой первую попытку связать ферментную конституцию организма с наследственностью. Было обнаружено, что гомогентиизиновая кислота исчезает, если ее добавить к сыворотке крови здорового чело-

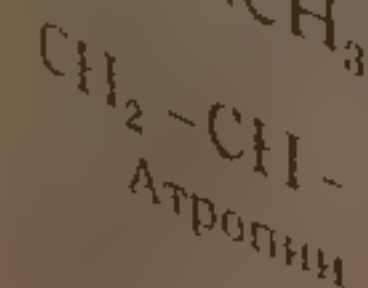
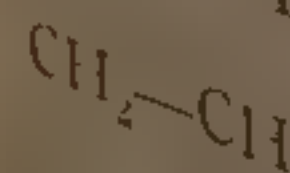
ька, и сохраняется
страдающего альк
видно, что употре
обнаружить скоро
мальной concentra
сделать заключени
крови людей, стра
фермента в норм
других тканей, кр
получено доказате
чем ингибиторов.
предположить, что

Гомог

Это эквивалентно
кислоты, однако
ятно, что реакц
ких ферментов. Та
обмена веществ н
ление проблемы

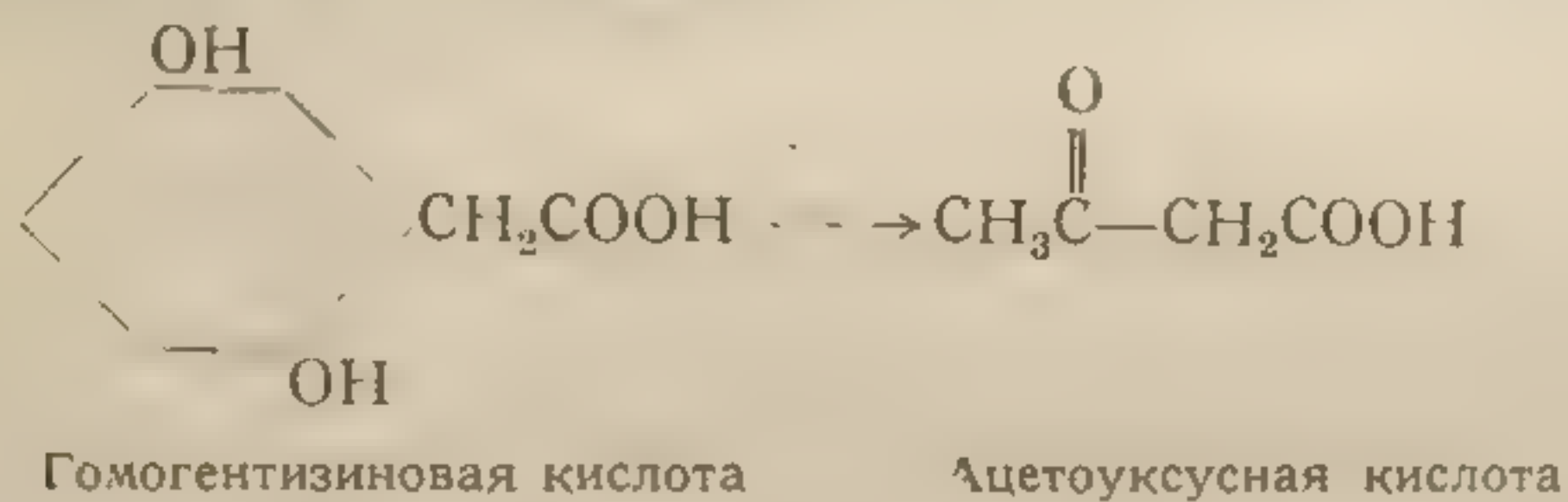
Некоторые

Целый ряд и
роликов способ
ние эксперимент
ется как частич
[200, 538] провед
специфичности ф
следовали также
лиации для сист
при этом реакци



Атропин

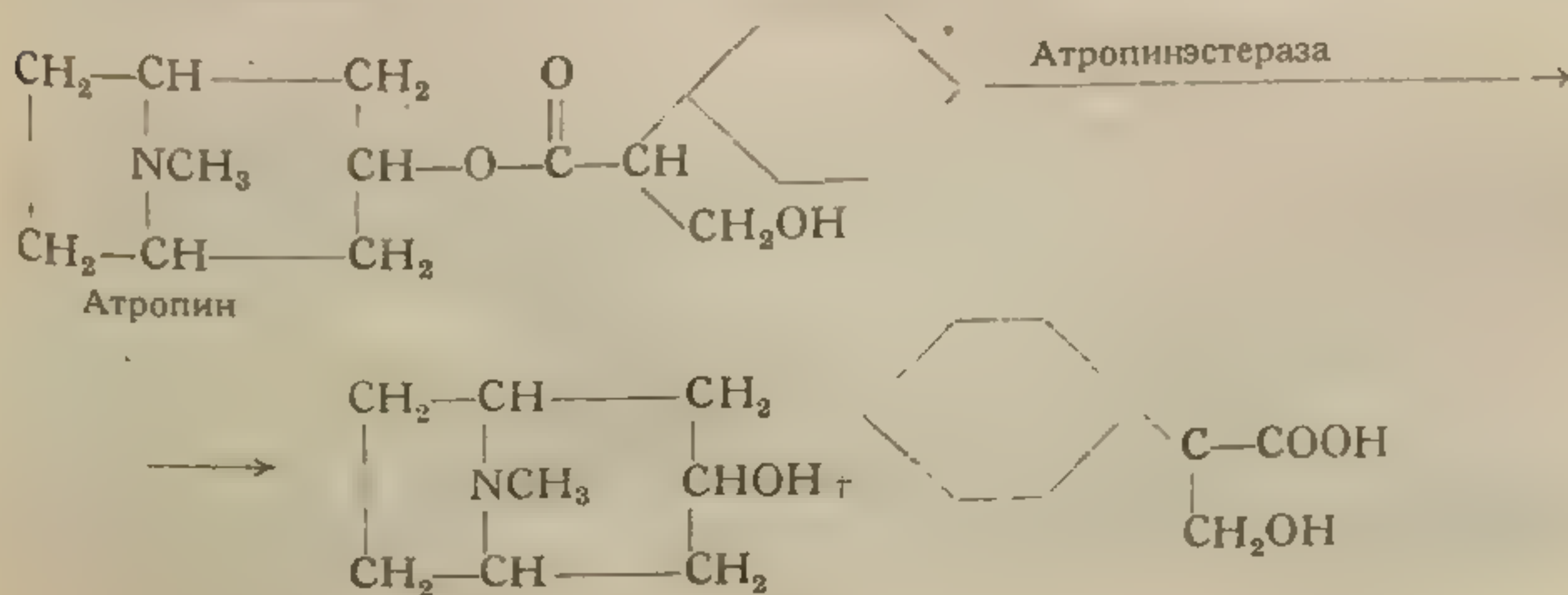
века, и сохраняется при добавлении к сыворотке крови человека, страдающего алькаптонурией. Из приводимых автором данных видно, что употреблявшиеся им аналитические методы позволяют обнаружить скорость реакции, эквивалентную примерно 2% нормальной концентрации гомогентизиновой кислоты. Поэтому можно сделать заключение, что ферментативная активность сыворотки крови людей, страдающих алькаптонурией, меньше 2% активности фермента в нормальной сыворотке. Ферментативная активность других тканей, кроме крови, не была исследована, не было также получено доказательств того, что это различие не связано с наличием ингибиторов. Сама реакция еще не выяснена, однако можно предположить, что она такова:



Это эквивалентно гидролизу, дающему 2 молекулы ацетоуксусной кислоты, однако стехиометрия реакции неизвестна и наиболее вероятно, что реакция идет не в одну ступень и с участием нескольких ферментов. Таким образом, точная природа данного нарушения обмена веществ неизвестна, и представляло бы интерес переисследование проблемы.

Некоторые алкалоидные эстеразы в животных тканях

Целый ряд исследователей наблюдал, что кровь некоторых кроликов способна гидролизовать алкалоид атропин, а генетические эксперименты дали доказательство того, что это свойство наследуется как частично доминантный признак [44]. Глик и сотрудники [200, 538] провели обширные эксперименты по распространению и специфичности фермента, участвующего в этом гидролизе. Они исследовали также кинетику реакции и определили константу диссоциации для системы фермент—субстрат. Ниже приводится идущая при этом реакция.

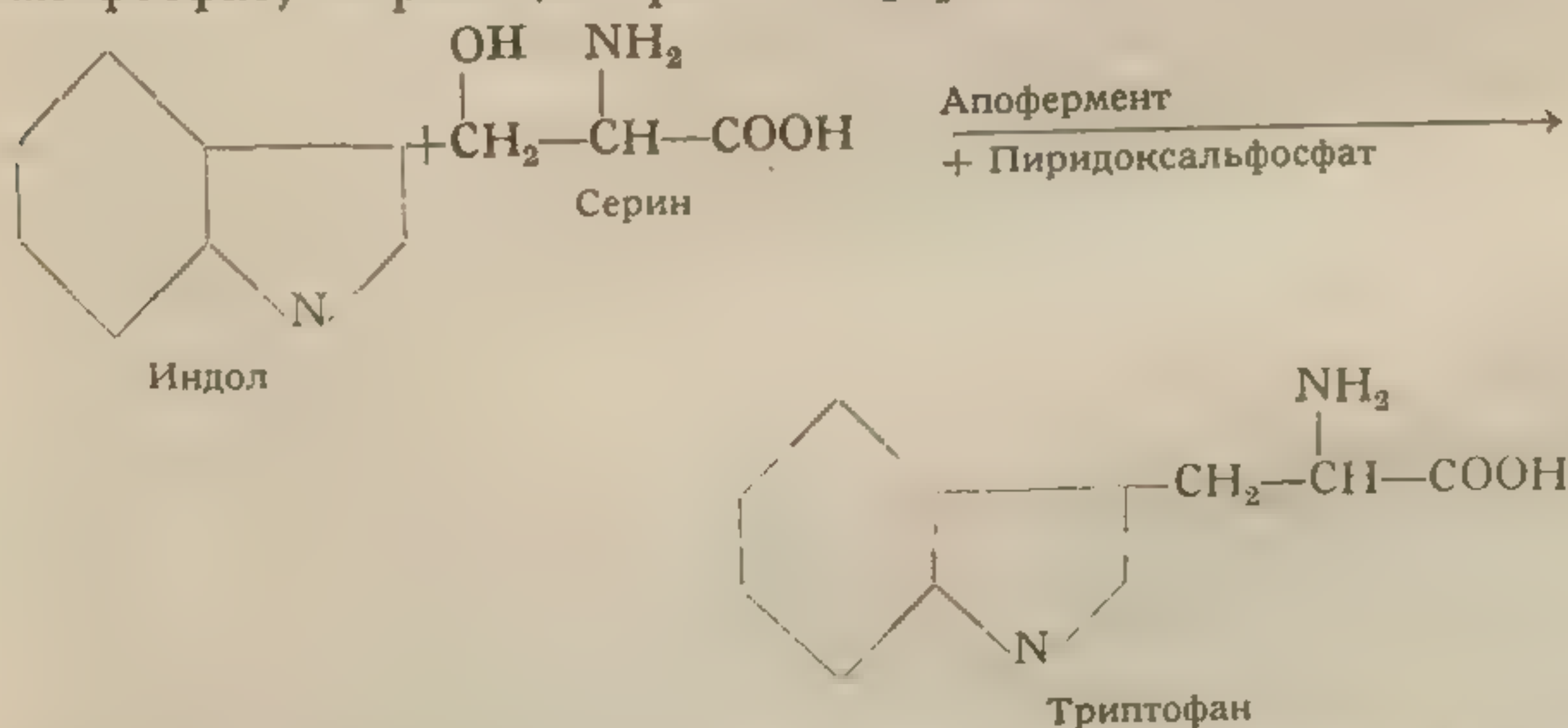


чайню сбалансировано. По данным этих экспериментов трудно определить максимальное относительное количество фермента, которое может содержаться у животных, не обнаруживающих эстеразной активности, так как наблюдается слабый спонтанный гидролиз субстрата. Однако эта величина, по-видимому, меньше 1% нормальной величины.

Некоторые другие интересные моменты, связанные с этими исследованиями, основаны на наблюдениях, согласно которым активность атропинэстеразы обнаружена в печени кошек, крыс, собак и лягушек, но не обнаружена в сыворотке крови этих животных. Препараты печени и сыворотки крови морской свинки не действуют на атропин, однако ее печень содержит активную гомоатропинэстеразу. Наследственность этих признаков, очевидно, не была исследована.

Синтез триптофана у *Neurospora*

Татум и Боннер [638] показали, что при инкубировании живого, но не растущего мицелия гриба *Neurospora* в среде, содержащей индол, образуется триптофан. Выход аминокислоты увеличивается при добавлении серина. В дальнейшем Умбрейт, Вуд и Гунзалиус [660] приготовили из *Neurospora* свободный от клеток ферментный препарат и показали, что он содержит фермент (называющийся в настоящее время триптофандесмолаза или триптофансинтетаза), катализирующий образование триптофана из индола и серина. Показано также, что для прохождения этой реакции необходим пиридоксальфосфат, играющий роль кофермента.



Хотя эта реакция представляется простым удалением элементов воды, приводящим к конденсации, более вероятно, что она происходит в несколько ступеней, и возможно, что в ней участвует более одного фермента. Лейн и другие [362] и Митчелл и Лейн [423] выделили у *Neurospora* мутантную линию (C83), использующую для роста триптофан, но не использующую индол, как это делают почти все другие нуждающиеся в триптофане мутанты этого гриба (см. стр. 202). Генетические исследования дали доказательство того, что линия C83 отличается от линии гриба дикого типа изменением

локуса одного-единственного гена по крайней мере в отношении потребности в триптофане. Дальнейшие исследования показали, что, в то время как свободные от клеток препараты, содержащие растворимые ферменты, приготовленные из линии дикого типа и многих мутантных линий, содержат в высшей степени активную ферментную систему, осуществляющую синтез триптофана из индола и серина, сходные препараты, приготовленные из линии С83, не обнаруживают измеримой активности. Применявшиеся методы анализа позволяют обнаружить примерно 0,2—0,3% активности, находимой в активных линиях. Смесь ферментных препаратов, приготовленных из нормальной и мутантной линий, обнаруживает активность, соответствующую их относительному содержанию в смеси нормальной системы. Ферментные препараты, полученные путем диализа и очистки препаратов, приготовленных из нормальной и мутантной линий, при помощи фракционирования сульфатом аммония и абсорбции и элюции из фосфата кальция, дали такие же результаты, как и неочищенные экстракты.

Яновский [715, 716] расширил эти исследования, используя другой мутант (Y1952), который оказался либо сильно сцепленным, либо аллеломорфным с С83. Эта линия сходна с линией С83 по потребности в ростовых веществах, и ферментативная активность не была обнаружена в свободных от клеток экстрактах, приготовленных из этой линии. Кроме того, наблюдалось, что ген *su*-Y1952 (возникший в другом локусе подавитель гена Y1952) действует как частичный подавитель мутации Y1952 и в то же время не оказывает такого действия на линию С83. Иначе говоря, двойной мутант Y1952, *su*-Y1952 обнаруживает значительный рост в отсутствие триптофана и образует ферментную систему, синтезирующую триптофан, которую можно обнаружить в приготовленных из этой линии свободных от клеток препаратах. Эти эксперименты с линиями *Neurospora* С83, Y1952 и подавителем Y1952 показывают, по-видимому, несомненную корреляцию между потребностью в ростовых веществах и возникающим в результате генных мутаций отсутствием активности ферментов. Однако, как уже отмечалось, такая кажущаяся простой зависимость между геном, ферментом и реакцией может быть поверхностной, и необходимо тщательно исследовать каждый компонент системы.

Эта важная мысль подтверждается результатами исследований Хогнесса и Митчелла [285] по наследованию системы триптофандесмолазы у *Neurospora*. Они показали, что некоторые линии, не нуждающиеся для роста в триптофане, могут обнаруживать совершенно такое же отсутствие активности фермента, как и мутанты С83 и Y1952, когда они растут при соответствующих внешних условиях. Одна из этих линий была получена от скрещивания линии С83 с линией дикого типа. При анализе 18 сумок по признаку потребности в триптофане было обнаружено, как и ожидалось, расщепление в отношении 4 : 4. Однако одна сумка вместо 4 культур, не обнаруживающих активности фермента, дала 6 таких куль-

тур. Дальнейшее
можно получить в
используя мутанты
или грибы, расту-
не может расти в
ности триптофана

Относительная удельная активность

1.0

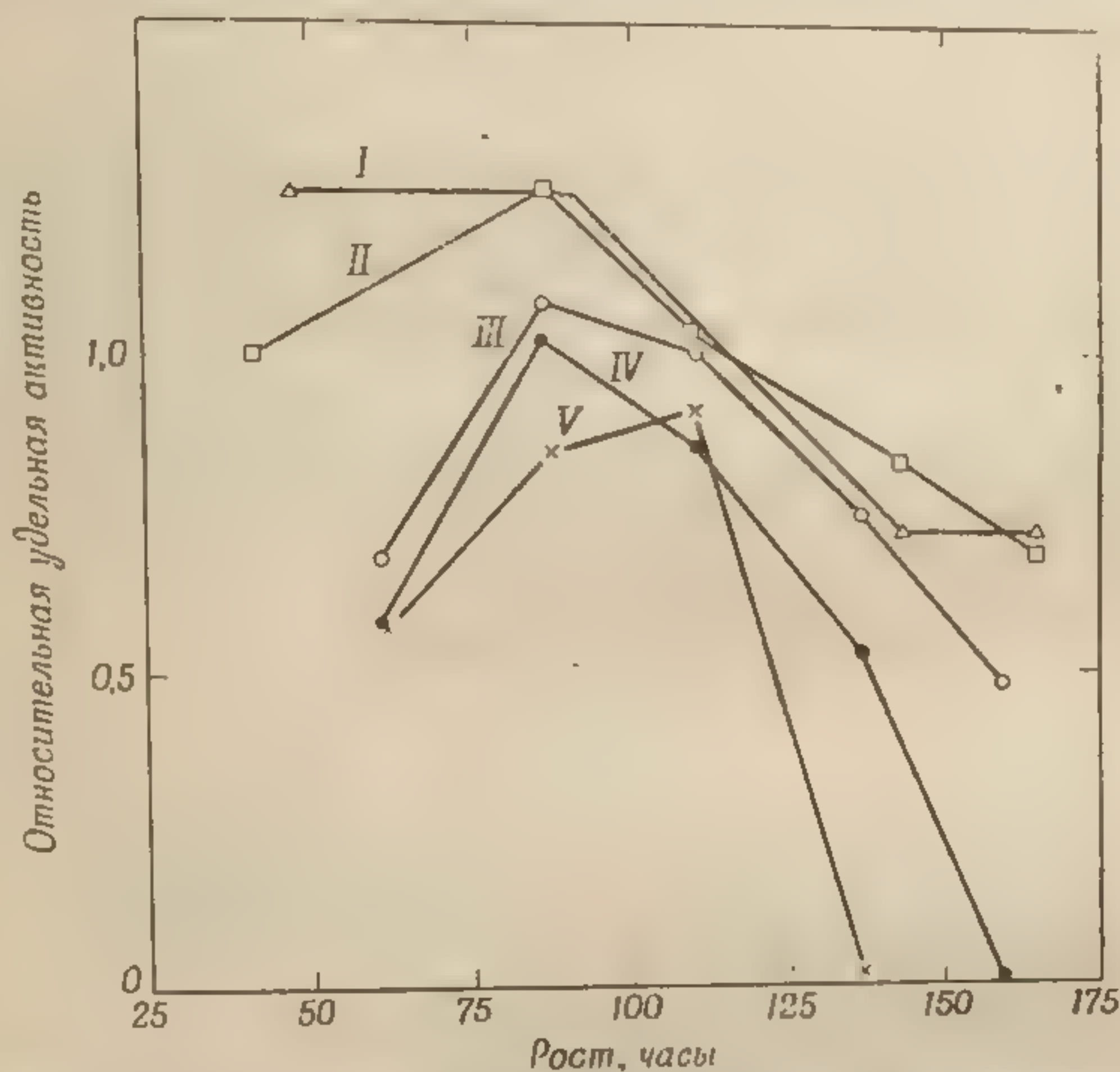
0.5

0
25

Фиг. 42.
десмолазы
Время исчез-
варьирует в
чем через 96
линия 8a + 0,
триптофана

при очень низки
что присутствие
воздействие на о
щаяся в ней оп
Другой тип
при анализе пот
линии *Neurospor*
линии С84 обнару
фандесмолазы, ч
фиг. 43, некото
обнаруживает в
части потомств
фермента отсу

тур. Дальнейшее исследование показало, что активность фермента можно получить в препаратах из аберрантных культур дикого типа, используя молодые грибы, растущие в присутствии триптофана, или грибы, растущие в отсутствие триптофана (фиг. 42). Линия C83 не может расти в отсутствие триптофана и не обнаруживает активности триптофандесмолазы даже в очень молодых культурах или

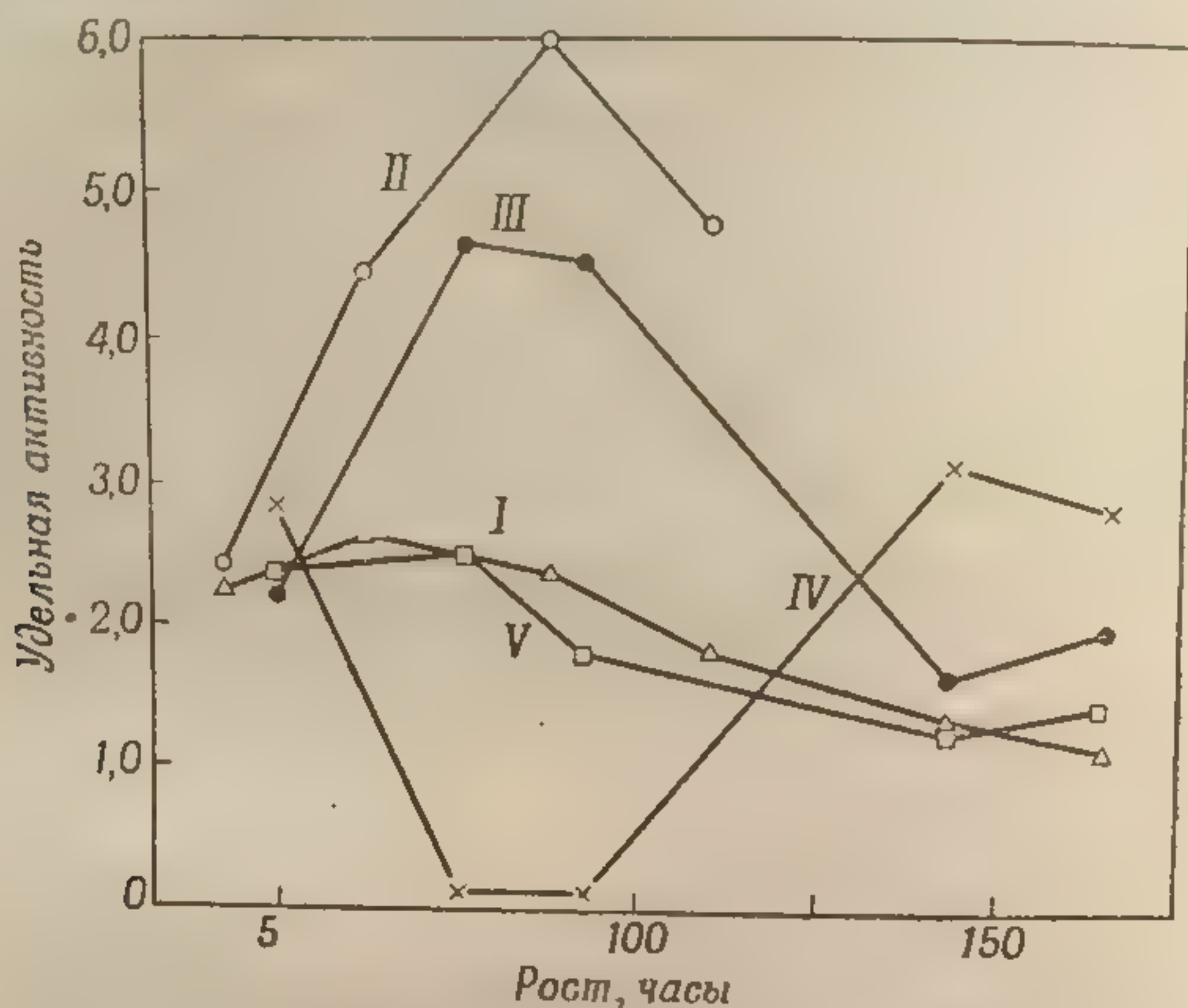


Фиг. 42. Относительная удельная активность триптофандесмолазы в двух фенотипически диких линиях *Neurospora*. Время исчезновения активности фермента в присутствии триптофана варьирует в линии 8-1-3a, причем иногда активность исчезает менее чем через 96 час. I — линия 8a+0,00 мг триптофана на 1 мл, II — линия 8a+0,10 мг триптофана на 1 мл, III — линия 8-1-3a+0,00 мг триптофана на 1 мл, IV — линия 8-1-3a+0,05 мг на 1 мл, V — линия 8-1-3a+0,10 мг триптофана на 1 мл.

при очень низких концентрациях триптофана, однако возможно, что присутствие триптофана оказывает столь же непосредственное воздействие на отсутствие в этой линии фермента, как и содержащаяся в ней определенная генная мутация.

Другой тип отсутствия триптофандесмолазы был открыт [285] при анализе потомства от скрещивания нуждающейся в гистидине линии *Neurospora* (C84) с линией дикого типа. Исходная культура линии C84 обнаруживала в 2—3 раза большую активность триптофандесмолазы, чем линия дикого типа, однако, как показано на фиг. 43, некоторая часть потомства, нуждающаяся в гистидине, обнаруживает высокое содержание фермента, тогда как у другой части потомства на промежуточных стадиях роста активность фермента отсутствовала. Взаимодействие гена, обуславливающего

потребность в гистидине, по крайней мере с одним другим геном, по-видимому, контролирует высокий и низкий уровень активности триптофандесмолазы.



Ф и г. 43. Расщепление по признаку активности триптофандесмолазы в скрещивании линии дикого типа 8a с линией C84A (нуждающейся в гистидине) у *Neurospora*. Многие линии, имеющие низкую активность (I), или не обнаруживают ее совсем, после того как она потеряна, или сохраняют ее в течение более продолжительного времени, чем в показанном примере. I — родитель 8a, II — родитель C84A, III — потомство C84 (19-1-3) (высокая активность), IV — потомство C84 (19-1-2) (низкая активность), V — потомство дикого типа (19-1-2) (нормальная активность).

В дальнейших экспериментах с системой триптофандесмолазы было показано [285], что при помощи облучения ультрафиолетом в линии C83 можно вызвать обратные мутации к независимости от триптофана. В качестве сигнализаторов, гарантирующих от засорения, использовались признаки колоний и альбинолические формы. Препараты, полученные после 20-кратной очистки триптофандесмолазы из линий дикого типа и из линий обратных мутаций, сравнивались при помощи определения констант сродства каждого из них с индолом, серином и пиридоксальфосфатом. Как эти, так и данные Яновского по подавителю мутанта Y 1952 (su-Y 1952) суммированы в табл. 25.

Таблица 25
Определение величин K_s для триптофандесмолазы
(измерения произведены при 35—37° в фосфатном буфере с pH 7,6—7,8) [285]

Субстрат или кофермент	K_s	K_s
Индол	—	$2,3 \cdot 10^{-5}$
L-Серин	$3,4 \cdot 10^{-3}$ $6,0 \cdot 10^{-3}$	$6,3 \cdot 10^{-3}$
Пиридоксальфосфат ...	$3,0 \cdot 10^{-6}$	$3,4 \cdot 10^{-6}$

Коркилл [116], изидов и фермента в жили 4 типа раст комбинации этих дв 1) гликозид + ферм 4) ни гликозида, ни по гликозиду, так п отсутствия гликози содержания в раз в 150 раз, причем ст сухого веса лист ст 0,66 до 6,6% от нито были более содержащие 6,6—2 Результаты нескол фермент линамара для двух упомяну того, что на эти гл эмульсин), вследс количества ферме

Уже много лет (*Trifolium repens*) со если эти вещества по щего иногда в самом жарин и лотаустрал дринов ацетона и м линамарина цианид

Учитывая ошибки условий, представл ерной разницы меж тает ферментов, вы Y1952 и линии с об различия могут леж

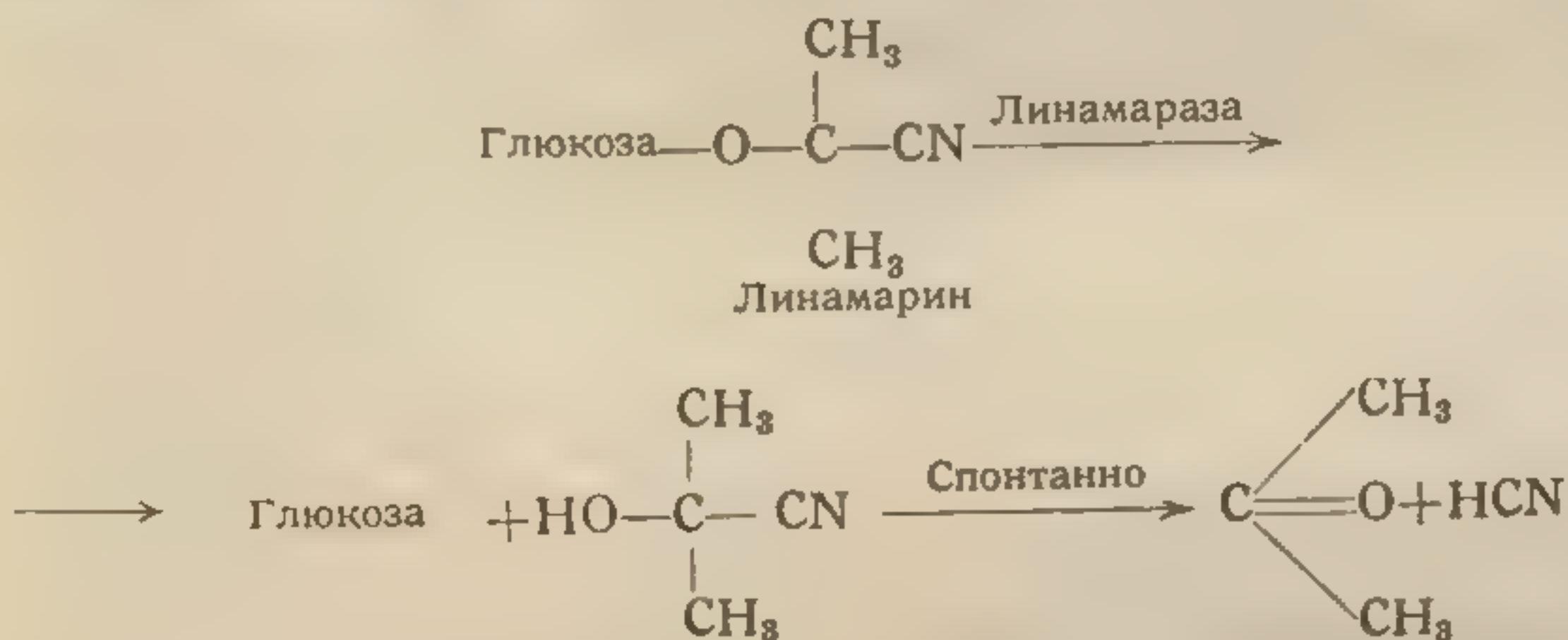
Ли

Глюкоза

Учитывая ошибки опыта и наличие небольших различий в условиях, представляется маловероятным существование достоверной разницы между величинами этих полуэмпирических констант ферментов, выделенных из линии дикого типа с подавителем Y1952 и линии с обратной мутацией C83. Однако достоверные различия могут лежать в пределах ошибок опыта.

Линамаразы у белого клевера

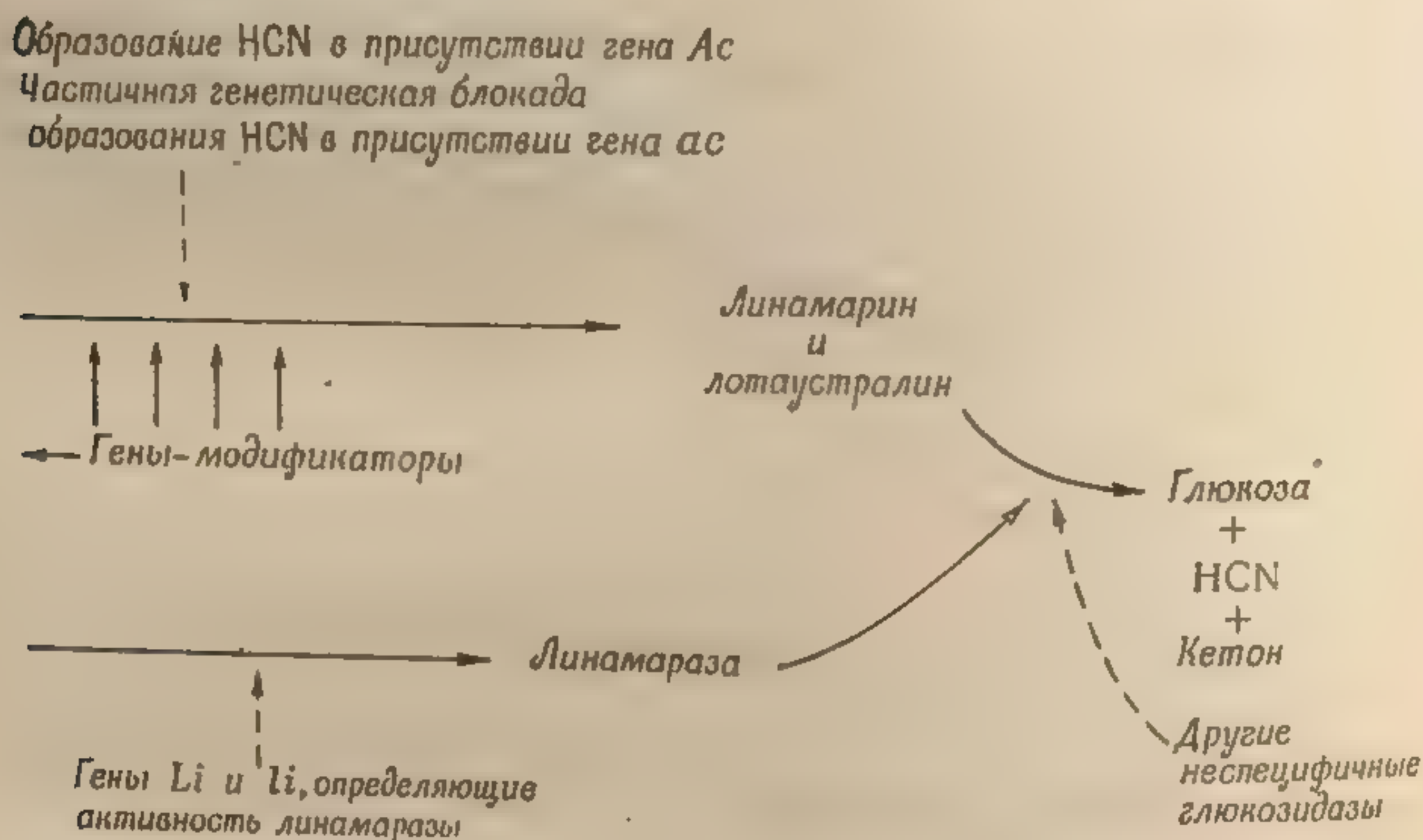
Уже много лет назад было установлено, что белый клевер (*Trifolium repens*) содержит вещества, дающие синильную кислоту, если эти вещества подвергаются действию фермента, присутствующего иногда в самом растении. Два выделенных вещества — линамарин и лотаустралин — представляют собой гликозиды цианогидринов ацетона и метилэтилкетона соответственно. При участии линамарина цианид образуется в результате следующей реакции:



Коркилл [116], Куп [115] и другие исследовали наличие гликозидов и фермента в популяции растений белого клевера и обнаружили 4 типа растений, представляющие собой все 4 возможные комбинации этих двух веществ, т. е. гликозида и фермента, а именно: 1) гликозид + фермент; 2) только гликозид; 3) только фермент; 4) ни гликозида, ни фермента. Класс растений, отрицательный как по гликозиду, так и по ферменту, никогда не обнаруживал полного отсутствия гликозида и ферментативной активности. Гликозиды содержались в различных концентрациях, варьирующих более чем в 150 раз, причем максимальное количество было примерно 0,04% от сухого веса листьев. Вариации количества гликозидов в пределах от 0,66 до 6,6% от максимального и между 20 и 100% от максимального были более или менее непрерывными, тогда как растения, содержащие 6,6—20% от максимального, по-видимому, отсутствуют. Результаты несколько осложняются изменениями внешних условий. Фермент линамараза был очищен и оказался довольно специфичным для двух упомянутых выше гликозидов. Однако нет доказательств того, что на эти гликозиды не действуют другие ферменты (например, эмульсин), вследствие чего невозможно определить верхний предел количества фермента, присутствующего у растений, отнесенных к

классу не содержащих фермента. Этот верхний предел, вероятно, значительно меньше 1% от максимума.

Этвуд и Сюзливан [9] и Коркилл [116] получили доказательства того, что присутствие гликозидов и линамаразы определяется двумя неаллеломорфными доминантными генами (Li и Ac), содержащимися в популяции белого клевера. Хотя вполне возможно определить действие линамаразы количественно по скорости образования глюкозы, HCN или кетона, тем не менее такое определение



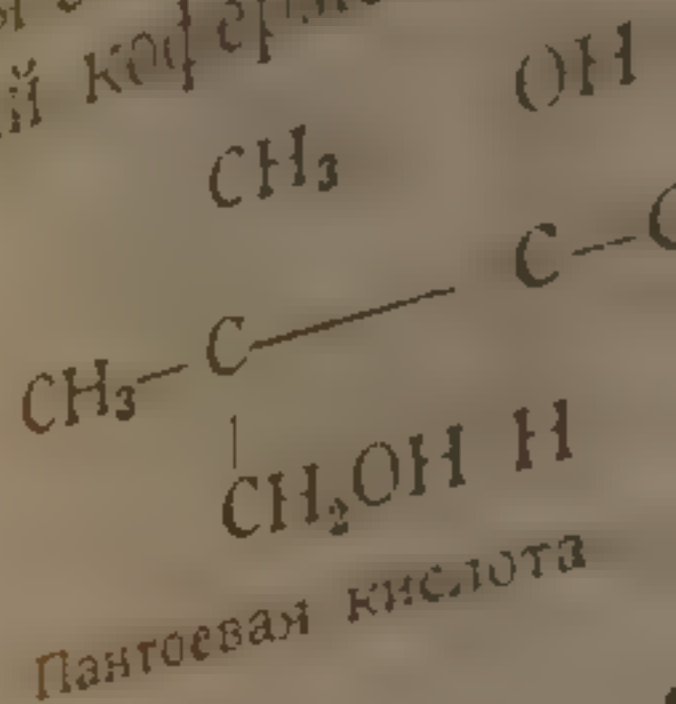
Фиг. 44. Генетический контроль образования HCN у белого клевера.

трудно осуществить практически на большом числе растений, которое необходимо для генетического исследования. Вследствие этого был использован грубый качественный колориметрический метод определения HCN. Листья клевера, листья плюс гликозид или листья плюс фермент помещали в пробирки, содержащие бумагу, смоченную пикриновой кислотой, помещенную выше реакционной смеси. Интенсивность изменения цвета в результате реакции HCN с пикриновой кислотой оценивалась по условной шкале. Этот метод, по-видимому, пригоден для грубого анализа, однако для проведения более точного биохимического определения имеющихся генетических различий необходимо выработать более точный метод анализа. Итоги генетических исследований явления образования цианида у клевера представлены на фиг. 44.

Синтез пантотеновой кислоты

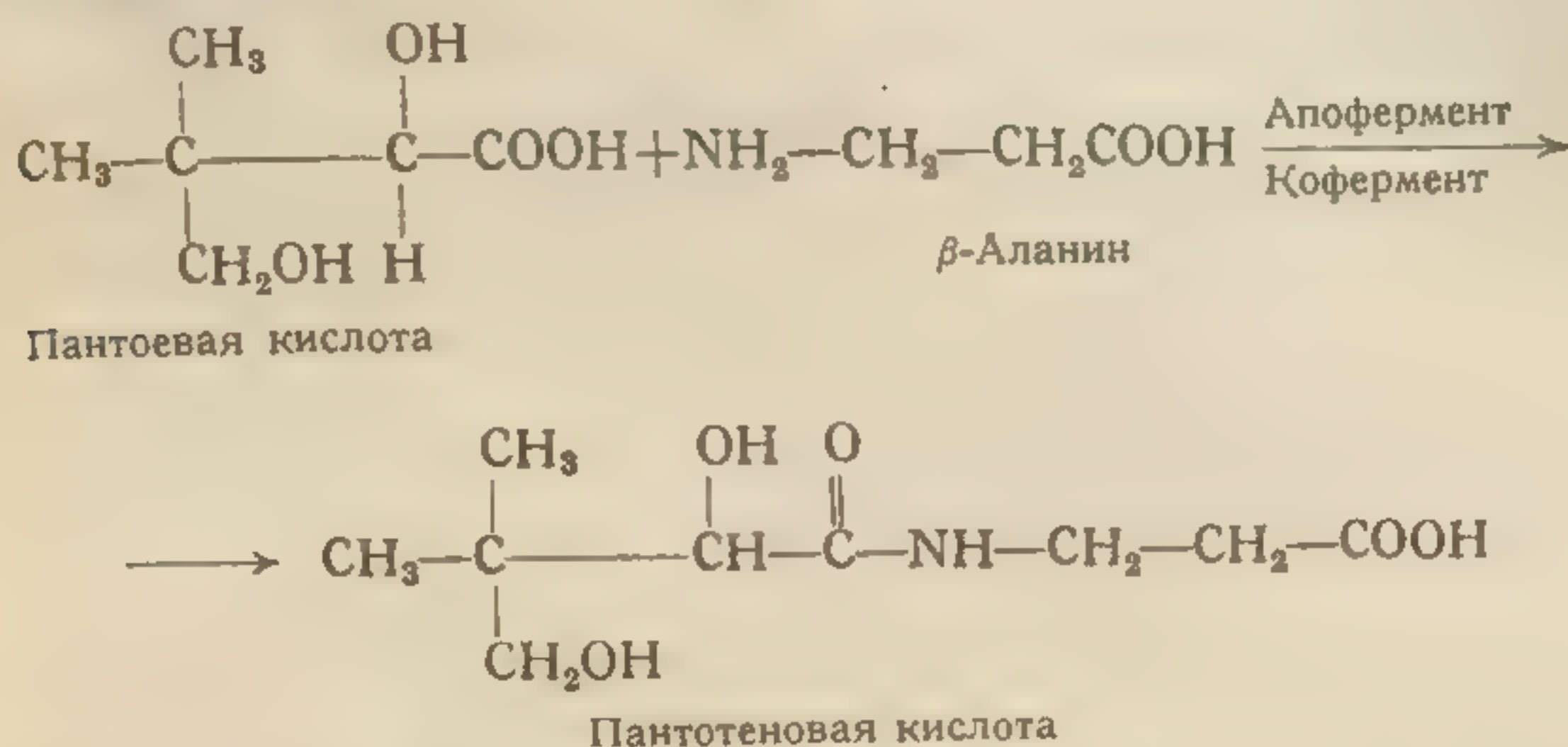
У *Neurospora* вырабатывается ферментная система, катализирующая конденсацию пантеновой кислоты и β-аланина с образованием витамина — пантотеновой кислоты [672, 673]. Для прохо-

Мутации и ...
ждения этой реакции,
вестный кофермент.



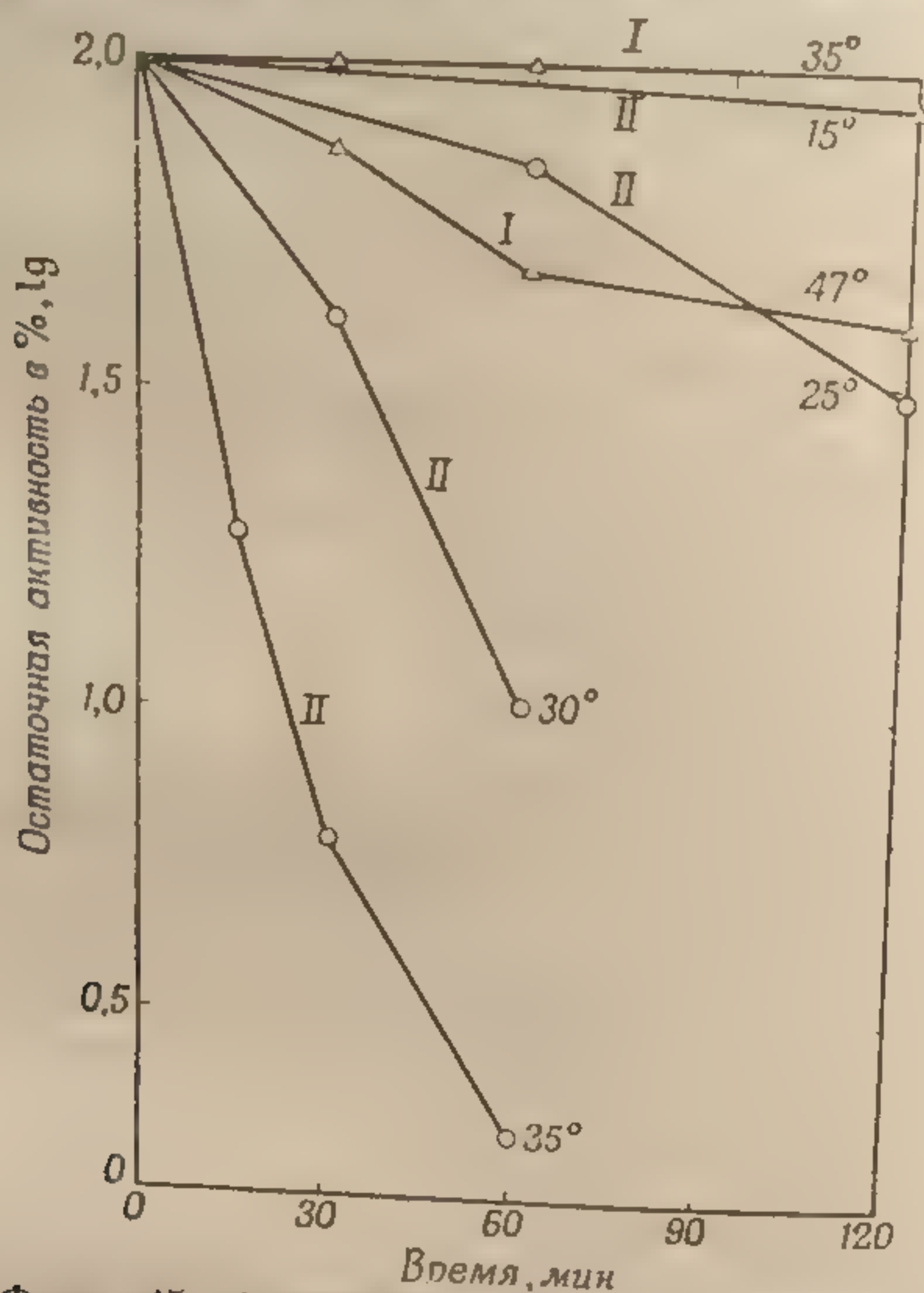
Действительный м...
неожиданным, если...
необходимой энергия...
ная система была...
мицелии и в сухом а...
spora дикого типа. В...
однако было показан...
растворимого компо...
дающихся для роста...
был получен под в...
другой (5531) — пос...
из этих мутантов не...
кислоты и β-аланин...
обеих линиях измен...
систем, синтезирующ...
были проведены с...
щего мицелия. В...
исследований, прове...
пантотеновой кисло...
зволюл обнаружить...
чества пантотеновой...
однако, что оба мут...
синтезу в ацетонове...
Эти факты говорят...
ной системы, в нем...
у мутантов, прои...
к синтезу, тогда...
эта способность не...
наблюдается почти...
у мутантов, подо...
С другой стороны...
новить достоверн...
новой кислоты...

ждения этой реакции, по-видимому, необходим какой-то еще не известный кофермент.



Действительный механизм этой реакции неизвестен, и не будет неожиданным, если для образования пептидной связи окажется необходимой энергия какой-либо сопряженной реакции. Ферментная система была обнаружена в неповрежденном нерастущем мицелии и в сухом ацетоновом порошке, приготовленном из *Neurospora* дикого типа. В растворимой форме система не была выделена, однако было показано наличие сильно стимулирующего реакцию растворимого компонента. Было исследовано два мутанта, нуждающихся для роста в пантотеновой кислоте. Один из них (34556) был получен под воздействием ультрафиолетового облучения, а другой (5531) — после воздействия рентгеновских лучей. Ни один из этих мутантов не был способен использовать смесь пантотеновой кислоты и β -аланина. Генетические данные показывают, что в обеих линиях изменен один и тот же локус. Первые исследования систем, синтезирующих пантотеновую кислоту этих двух мутантов, были проведены с использованием неповрежденного, но нерастущего мицелия. В противоположность результатам аналогичных исследований, проведенных с мицелием линии дикого типа, синтез пантотеновой кислоты не наблюдался. Применяемый метод позволял обнаружить примерно 1% нормально образующегося количества пантотеновой кислоты. Последующие эксперименты показали, однако, что оба мутанта содержат системы, способные к активному синтезу в ацетоновом порошке или в отмытом нерастворимом осадке. Эти факты говорят о том, что на трех стадиях выделения ферментной системы, в неповрежденном мицелии или в ацетоновом порошке у мутантов происходит прогрессивное увеличение способности к синтезу, тогда как при использовании линий дикого типа эта способность не изменяется. Начальное различие очень резкое; наблюдается почти полное отсутствие ферментативной активности у мутантов, подобное обнаруженное в любом сходном примере. С другой стороны, на конечной стадии очистки не удается установить достоверных различий в способности к синтезу пантотеновой кислоты между препаратами, приготовленными из мутантных

и нормальных линий. Некоторые важные дополнительные эксперименты [534, 674] показали, что существует возможность таким образом изменить внешние условия, что мутанты, нуждающиеся для роста в пантотеновой кислоте, приобретают способность к ее синтезу. Если имеется некоторый запас витамина и культуры хорошо аэрируются, то мутанты растут и образуют значительно большее



Фиг. 45. Сравнительная чувствительность к высокой температуре синтезирующих пантотеновую кислоту ферментных систем, выделенных из нормального штамма *E. coli* и из чувствительного к температуре штамма, нуждающегося в пантотеновой кислоте при температурах выше 30° [736].

Источником фермента служил ацетоновый порошок, приготовленный из бактерий, выращенных при 25° без пантотената.

I — нормальный штамм, II — мутантный штамм.

количество пантотеновой кислоты, чем то, которое имелось вначале или обнаруживается в культурах линий дикого типа, растущих при обычных условиях культивирования *Neurospora*. Эта потребность в кислороде наблюдается на всем протяжении экспериментов. Анаэробные условия неблагоприятны для реакции со всеми препаратами фермента.

Полученные данные указывают на то, что нарушение обмена веществ, наблюдающееся у этих мутантов, нуждающихся для роста

в пантотеновой кислоте, а с синтезом энергии. Однако за процессы подавления важны для реакции мутанта связано с кислотой непосредственно мутант. Ферментативный

чен у *Escherichia coli* видимо, от изменения химического анализа изучается не происходит по экспериментам обнаружено и у организмов анализа. При исследовании от клеток экстракта обнаружено присутствие фактора сацию пантотеновой кислоты. обнаружено, что мутант в пантотеновой кислоте активности, наблюдении [736]. Исследователи к температуре, не произошедший от мутантотеновой кислоты витамина при температуре мальной среде при фиг. 45, активный штамм значительно более парат из нормальных указывают на то, что экспериментов с мутантотеновой, результаты при исследовании, более пантотеновой, обнаружено активное мутации, однако

Выделение

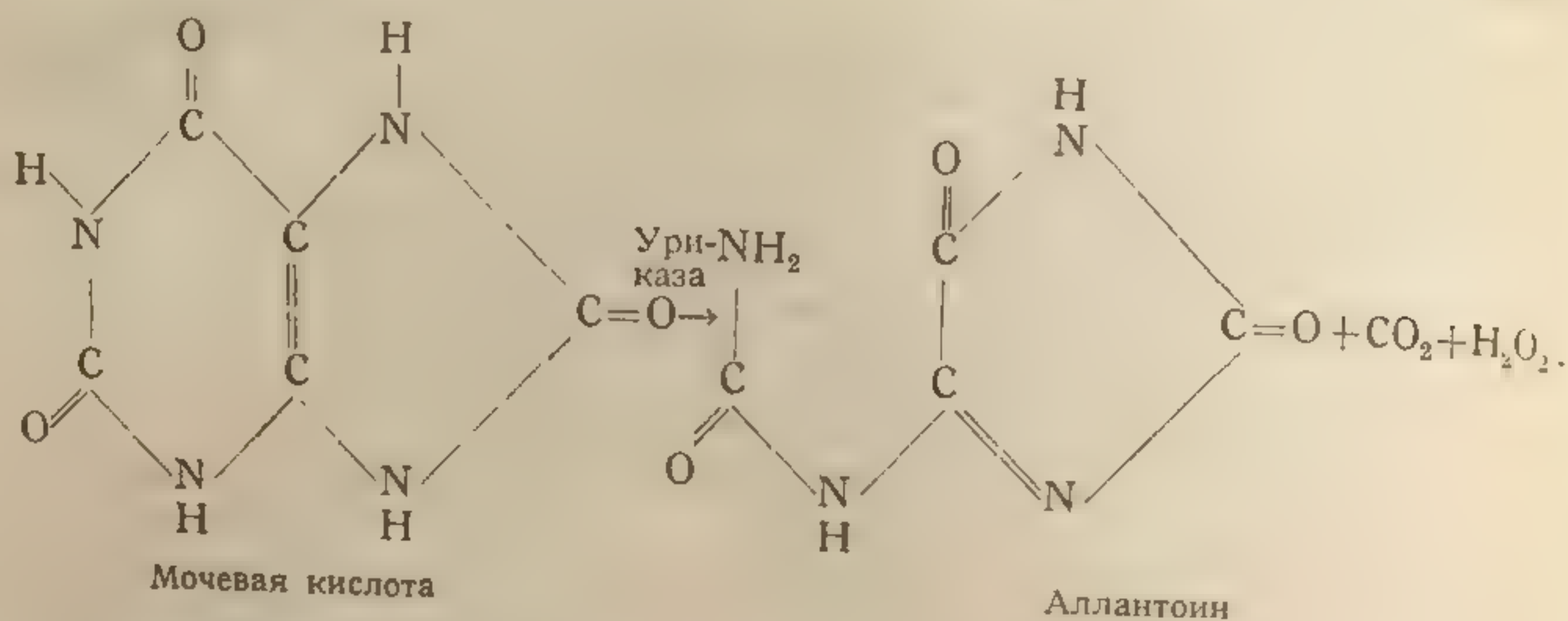
Мочевая кислота, как человек млекопитающие мочевую кислоту родственны

в пантотеновой кислоте, связано не с указанными выше реакциями синтеза, а с сопряженной с ними системой, служащей источником энергии. Однако за это явление могут быть ответственны какие-то процессы подавления или ограничения некоторых веществ, которые важны для реакции. В любом случае очевидно, что не наличие фермента связано с конечной стадией синтеза витамина, определяемой непосредственно мутантными генами этих нуждающихся в пантотеновой кислоте линий.

Ферментативный синтез пантотеновой кислоты был также изучен у *Escherichia coli* и у некоторых ее вариантов, зависящих, по-видимому, от изменения одного гена [398]. К сожалению, генетический анализ изученных штаммов невозможен, поскольку у них не происходит полового размножения, однако в проведенных экспериментах обнаружено явление, которое, вероятно, будет найдено и у организмов, пригодных для проведения генетического анализа. При использовании неповрежденных клеток или свободных от клеток экстрактов из нормального штамма *E. coli* было обнаружено присутствие ферментной системы, способной вызывать конденсацию пантотеновой кислоты с β -аланином с образованием пантотеновой кислоты. Для реакции необходимо наличие АТФ. Было обнаружено, что мутантный штамм *E. coli*, нуждавшийся для роста в пантотеновой кислоте, обладает менее чем 0,05% сопряженной активности, наблюдающейся в исходном нормальном штамме бактерии [736]. Исследования были распространены на чувствительный к температуре, нуждающийся в пантотеновой кислоте штамм, произошедший от упоминавшегося выше штамма, нуждающегося в пантотеновой кислоте. Этот новый штамм неспособен к росту без витамина при температуре выше 30°, однако может расти на минимальной среде при более низких температурах. Как показано на фиг. 45, активный препарат фермента, полученный из этого варианта, значительно более чувствителен к высокой температуре, чем препарат из нормального штамма. Представленные на фиг. 45 данные указывают на то, что изменен сам фермент, хотя и не было проведено экспериментов с хорошо очищенными препаратами фермента. Действительно, результаты такого рода, подобно случаям, полученным при исследовании гемоглобинов при серповидноклеточной анемии, более показательны, чем случаи, в которых совсем не обнаружено активности фермента. Иначе говоря, практически невозможно доказать отсутствие фермента в результате генной мутации, однако достаточно легко показать, что фермент изменен.

Выделение мочевой кислоты у далматской собаки

Мочевая кислота выделяется в мочу высшими приматами, такими, как человек и шимпанзе, в то время как другие обезьяны и млекопитающие вообще выделяют в большей степени аллантоин, чем мочевую кислоту. Было показано, что мочевая кислота и аллантоин родственны химически и ферментативно.



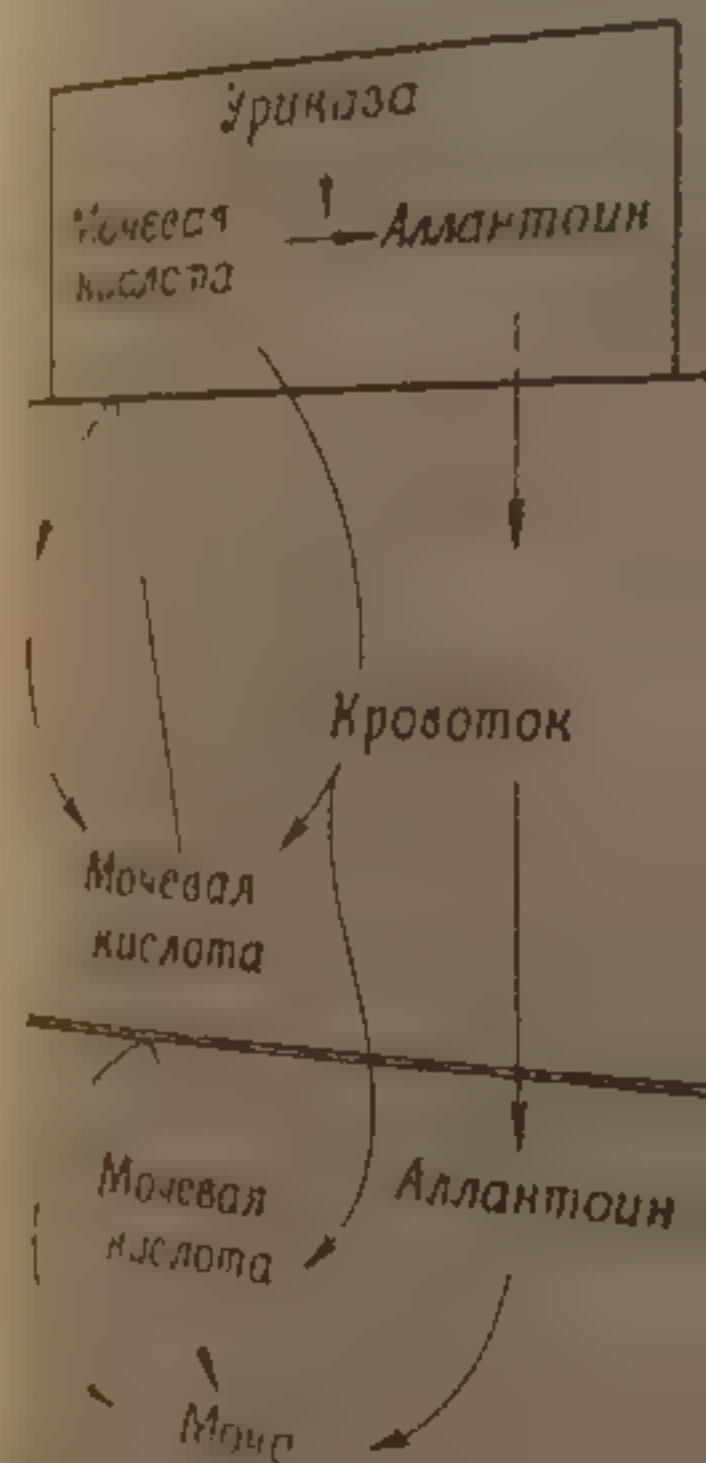
Это сложная реакция, протекающая в несколько химических ступеней. Был получен фермент высокой степени очистки, причем данных о необходимости более чем одного фермента не имеется. В 1916 г. Бенедикт [42] сделал наблюдение, что далматские собаки в отличие от других собак и хищников вообще и подобно человеку выделяют в большей степени мочевую кислоту, чем аллантоин. Таким образом была выявлена возможность существования у собак наследственных различий в отношении присутствия или отсутствия фермента уриказы.

В ряде исследований [657] были получены данные о том, что способность собак выделять мочевую кислоту наследуется как один рецессивный ген. При биохимическом исследовании вопроса было показано, что всеми собаками выделяется как мочевая кислота, так и аллантоин, однако у далматских собак отношение выделяемой мочевой кислоты к аллантоину выше, чем у других собак. В отношении выделения мочевой кислоты собаки распадаются на две четко отграниченные группы, а именно: выделяющие в день 4—10 мг на 1 кг веса тела и выделяющие более 28 мг на 1 кг веса тела в 1 день. При определенной диете эти величины достаточно постоянны, причем животных с промежуточным проявлением признака (выделяющих от 10 до 28 мг/кг) не обнаружено. Исследования обнаружили одинаковую активность уриказы в печени собак далматской и других пород. Таким образом, простое объяснение данного генетического явления отсутствием активности уриказы оказалось несостоятельным.

Значительно позднее Фридман и Байерс [185] получили некоторые экспериментальные данные, приближающие нас к пониманию данной проблемы. Они показали, что суммарное выделение в единицу времени мочевой кислоты вместе с аллантоином одинаково для далматских и других собак. Однако далматские собаки выделяют в среднем в 11 раз больше мочевой кислоты. Так как уриказа обнаружена в печени и не обнаружена в почках, то на содержание мочевой кислоты и аллантоина была исследована кровь. Были получены следующие цифровые данные, выраженные в миллиграммах азота на 100 мл плазмы крови:

Мутации и фенотипы
Далматские
Собаки дру...

И в данном случае, так как сумма относительных концентраций очевидное отклонение от нормы процесса выделения мочевой кислоты проходит в...



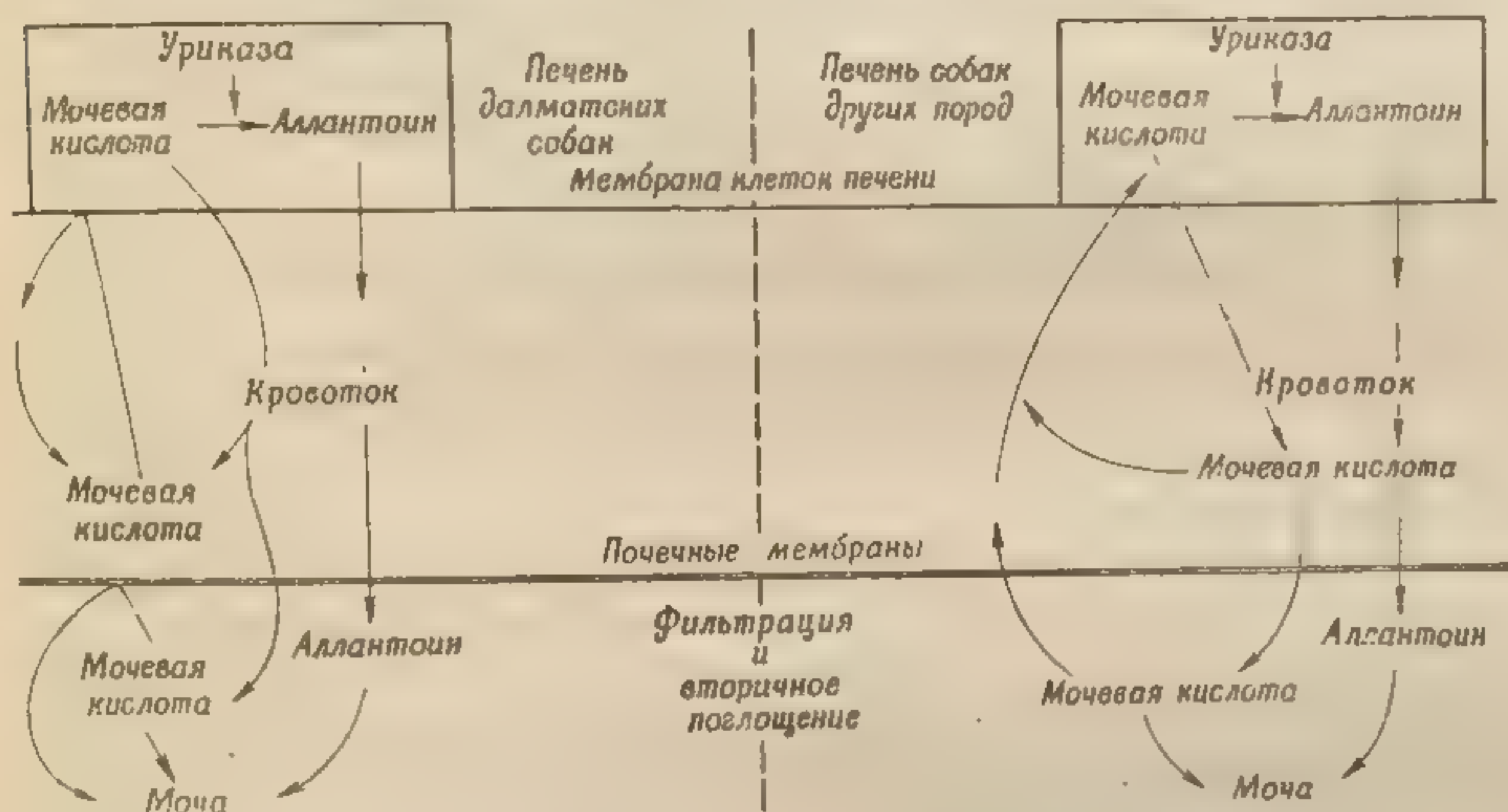
Фиг. 46. Выделение мочевой кислоты и аллантоина у собак далматской породы.

далматской породы отличаются от других пород, тогда как у других пород аллантоин не выделяется.

В связи с этим можно предположить, что у собак далматской породы отсутствует фермент уриказа, превращающий мочевую кислоту в аллантоин. В состав крови в отличие от мочи аллантоин входит в меньшем количестве. Фридман и Байерс обнаружили, что у собак далматской породы аллантоин выделяется в меньшем количестве, чем у других пород. Рим...

Далматские собаки	Мочевой кислоты	0,20
	Аллантоина	0,23
Собаки других пород	Мочевой кислоты	0,11
	Аллантоина	0,33

И в данном случае, так же как при исследовании выделяющихся веществ, их сумма оказалась одинаковой, однако в моче различие относительных концентраций этих двух веществ значительно выше. Это очевидное отклонение было понято в результате исследования процесса выделения почками. Было обнаружено, что мочевая кислота проходит в фильтрат клубочков почек; однако у собак



Фиг. 46. Выделение мочевой кислоты и аллантоина далматскими собаками и собаками других пород.

У собак далматской породы мочевая кислота не проходит через почечную мембрану и, возможно, также через мембрану печени.

далматской породы она не абсорбируется снова почечными канальцами, тогда как у других собак она в большей степени абсорбируется снова. Аллантоин не абсорбируется повторно в почках у собак всех пород.

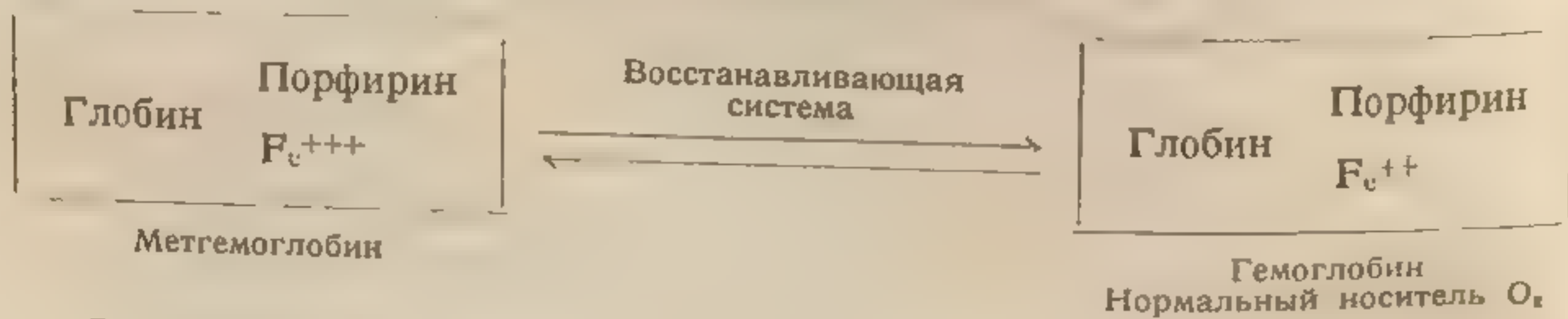
В связи с этим кажется несомненным, что явление выделения собаками далматской породы мочевой кислоты обусловлено в первую очередь отсутствием в почках механизма вторичной абсорбции, а не отсутствием образования в печени уриказы. У собак других пород мочевая кислота в дальнейшем, когда попадает обратно в печень, превращается в аллантоин. Однако остается в этом вопросе еще один не совсем ясный момент. Из приведенных выше данных по составу крови в отношении мочевой кислоты и аллантоина и из экспериментов Фридмана и Байерса по составу крови после перевязки мочеточника на первый взгляд кажется, что далматские собаки обладают менее активной системой уриказы, чем собаки других пород. Римингтон [515] пытается объяснить это видимое различие,

предполагая, что в клетках печени у далматских собак вторичная абсорбция мочевой кислоты отсутствует так же, как в клетках почечных канальцев. Обе обсуждавшиеся выше системы схематически изображены на фиг. 46. В настоящее время совершенно ясно, что данное различие, вызываемое у собак одним геном, необязательно имеет какое-либо отношение к образованию фермента уриказы. Оно может быть непосредственно или косвенно связано с образованием некоторых структурных элементов или обусловлено некоторыми ферментативными процессами, связанными с переносом мочевой кислоты через клеточные мембраны.

Эти результаты хорошо иллюстрируют те трудности, которые встречаются при анализе результатов наследственных изменений. Очевидно, что простейшее истолкование первоначальных наблюдений не соответствует действительности и на самом деле оно может служить лишь основой для дальнейших экспериментов.

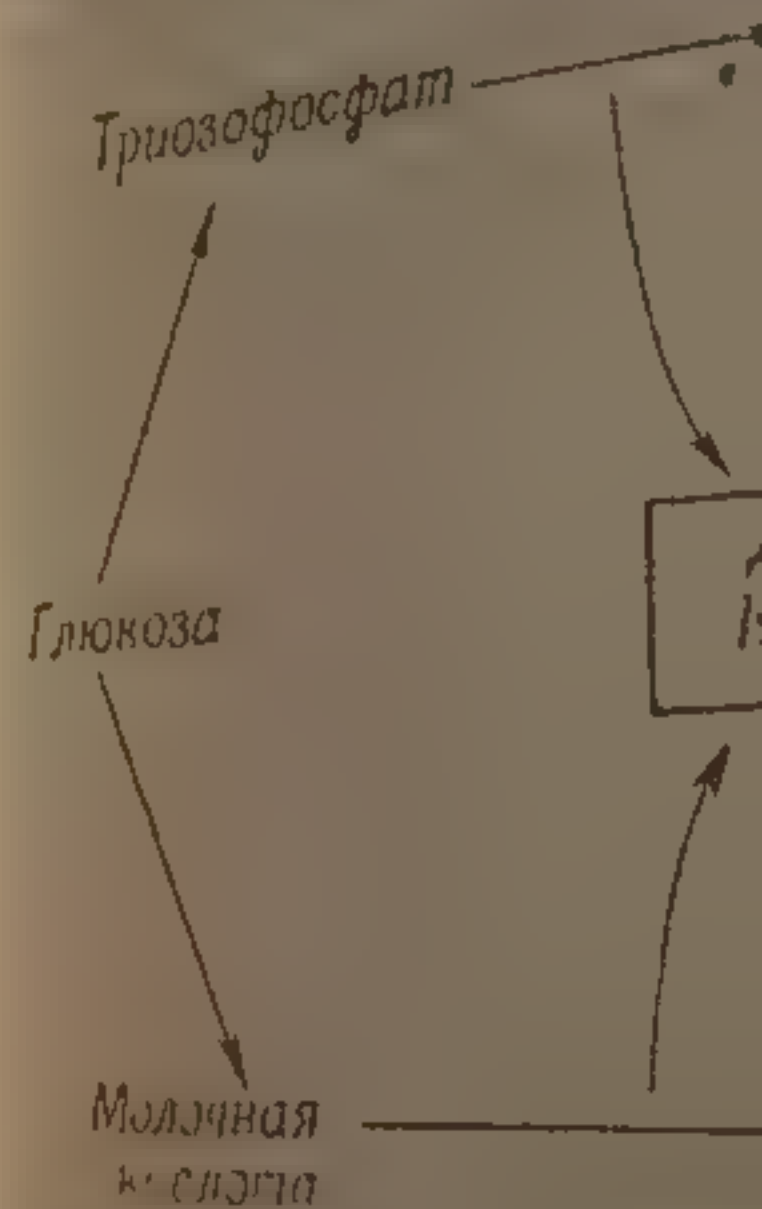
Идиопатическая метгемоглобинемия у человека

Идиопатическая метгемоглобинемия представляет собой сравнительно редкое заболевание человека и рассматривается Гибсоном [194] как принадлежащее к той же категории наследственных нарушений обмена веществ, как и алькаптонурия и цистинурия. Генетические данные в этом случае, по-видимому, ограничены наблюдениями, что данная болезнь встречается в определенных семьях, а не характеризуется случайным распределением среди населения. Однако биохимические исследования Гибсона таковы, что заслуживают рассмотрения в этой книге. Вопрос о генетическом значении этих данных должен быть оставлен открытым до тех пор, пока в будущем не будет проведен соответствующий генетический анализ. Нормальные красные кровяные клетки человека содержат примерно 1% гемоглобина в форме метгемоглобина, и предполагается, что между двумя формами гемоглобина существует равновесие. Нормально функционирующий гемоглобин преобладает вследствие действия в эритроцитах восстанавливающей системы.



В нормальной крови пропорция окисленного метгемоглобина может быть сильно увеличена действием некоторых окислительных агентов. Однако в нормальной крови гемоглобин быстро восстанавливается после удаления агентов, вызывающих окисление. В противоположность этой нормальной системе особи с идиопатической метгемоглобинемией не обладают активной системой для восстановления метгемоглобина до гемоглобина. В этом и состоит

Мутации и ...
нарушение обмена веществ
восстановление осущес-
твляемых с глико-
участие которых в ...
фиг. 47. Полученные
носителя флавопротеи-
метгемоглобинемией.
жет быть также выз-

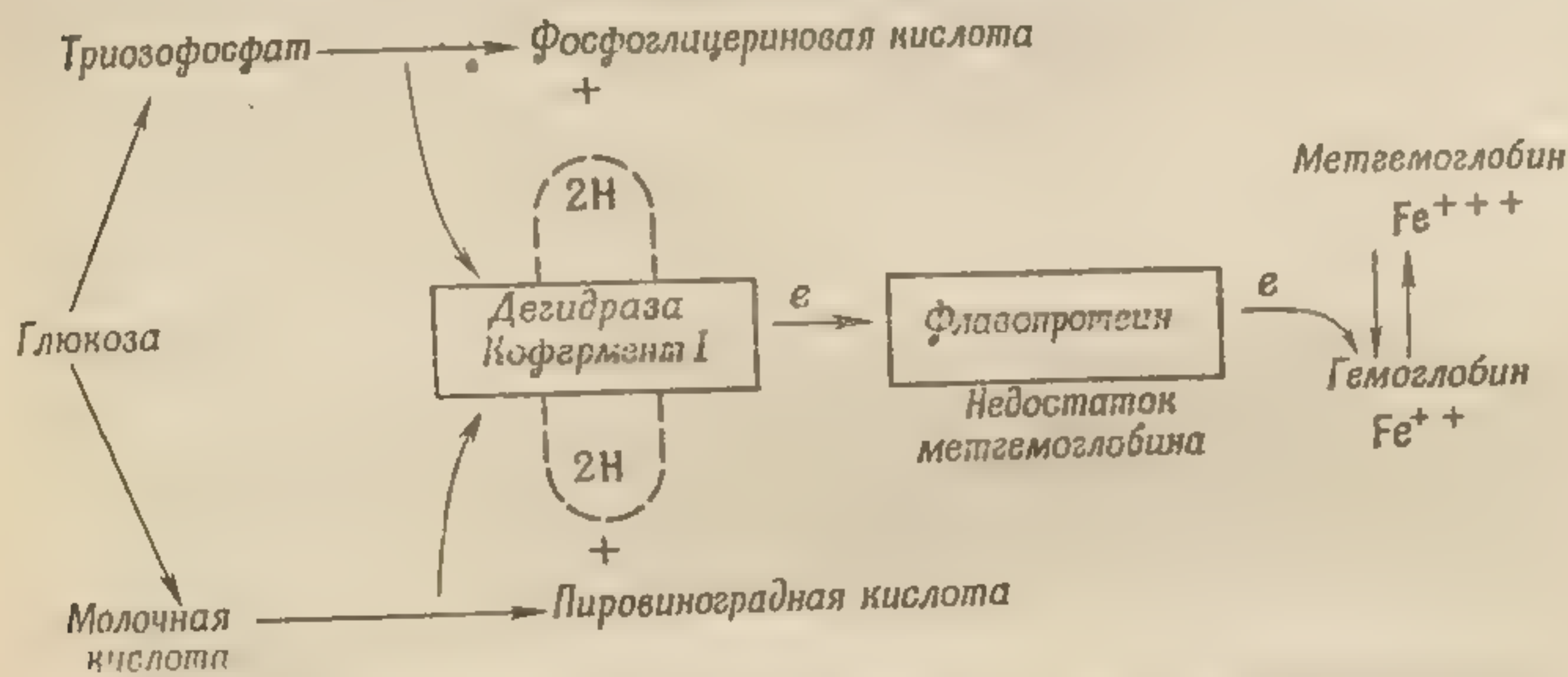


Фиг. 47. Восстанов-

конечного носителя ...
глюкозы и действия
нормальном состояни-
стает неопределенно
агенты, подобные ас-
мое восстановление
шенно очевидно, что
шением обмена веще-
достаточные доказат-
с изменением колич-
ности какого-то фла-

Активн-
Действие ката-
(стр. 153). Было об-
связан в основном с
хлорофилл растений
каталазы большого
релирует со степе-
мальные зеленые ст-
ность каталазы, то
меньшей активнос-

нарушение обмена веществ. Гибсон получил доказательства того, что восстановление осуществляется главным образом при помощи реакций, связанных с гликолизом (см. стр. 144). Специфические реакции, участие которых в этом процессе установлено, суммированы на фиг. 47. Полученные данные указывают на утрату или недостаток носителя флавопротеина в крови лиц, страдающих идиопатической метгемоглобинемией. Было предположено, что восстановление может быть также вызвано в присутствии метиленового синего как



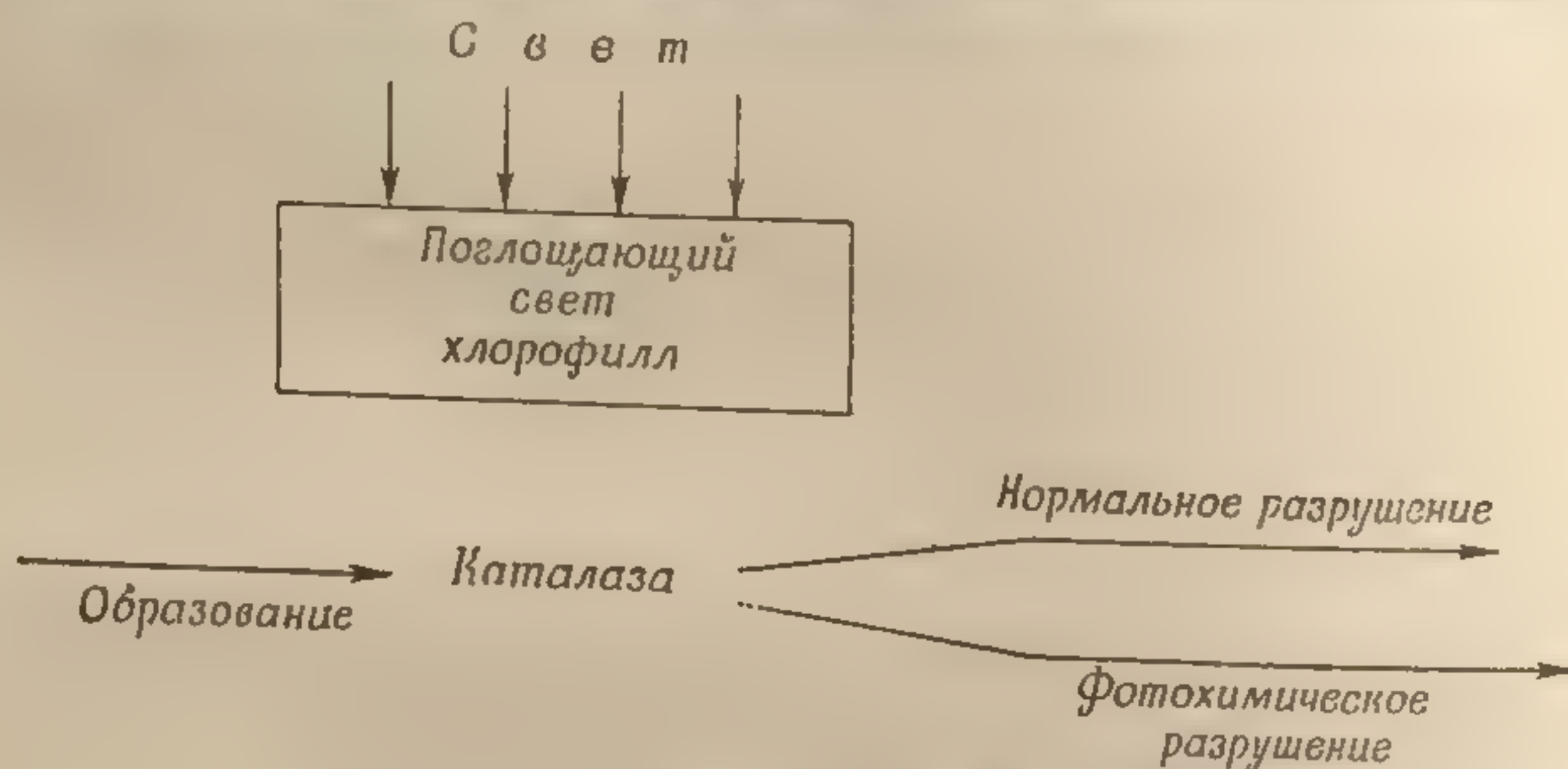
Фиг. 47. Восстановление метгемоглобина в нормальных эритроцитах.

конечного носителя при восстановлении за счет прямого окисления глюкозы и действия дегидраз и кофермента II (см. стр. 150). При нормальном состоянии *in vivo* количество гемоглобина не возрастает неопределенно долго, и было отмечено, что неспецифические агенты, подобные аскорбиновой кислоте, могут вызывать необходимое восстановление каким-то малоэффективным способом. Совершенно очевидно, что целый ряд моментов, связанных с этим нарушением обмена веществ, требует выяснения; тем не менее имеются достаточные доказательства того, что ослабление функции связано с изменением количества или качества и результирующей активности какого-то флавопротеина.

Активность каталазы у высших растений

Действие каталазы на перекись водорода обсуждалось раньше (стр. 153). Было обнаружено, что у высших растений этот фермент связан в основном с хлоропластами, которые содержат, кроме того, хлорофилл растения. Фон Эйлер [666, 667] исследовал активность каталазы большого числа мутантов ячменя и показал, что она коррелирует со степенью пигментации растений. Иначе говоря, нормальные зеленые стебли ячменя обнаруживают значительную активность каталазы, тогда как альбиотические стебли обладают вдвое меньшей активностью. Таким образом, по-видимому, один доминантный ген, контролирующий присутствие или отсутствие хлоро-

филла, влияет также и на образование каталазы. Как каталаза, так и хлорофилл содержат порфириновые структуры, вследствие чего объяснение этого явления, естественно, нужно было искать в предположении, что мутация влияет на синтез порфирина. Однако согласно данным работы, проведенной Эйстером [174], различие в активности каталазы можно объяснить, по-видимому, скорее на основе разрушения фермента, чем на основе его образования (фиг. 48). Эйстер исследовал сеянцы кукурузы от альбиотических и желтых мутантов, срагивая их с нормальными зелеными сеянцами. При



Фиг. 48. Каталаза в сеянцах растений.

использовании проб мацерированной ткани весом 1 г от сеянцев, выращенных в теплице (растущих на свету), была обнаружена следующая активность каталазы, определяемая по образованию O_2 в миллилитрах за 5 мин.: альбиотические растения — 1,53; желтые — 2,83; зеленые — 10,14. Сеянцы всех трех типов, выращенные в темноте, обнаружили одинаковую активность каталазы, уровень которой был на 25% выше, чем у зеленых растений, росших на свету. Когда выращенные в темноте сеянцы выставлялись на свет, каталаза исчезала со скоростью, обратно пропорциональной зеленой пигментации. Таким образом, представляется совершенно очевидным, что уровень содержания каталазы зависит от равновесия между скоростью ее образования и скоростью ее фотохимического разрушения. Генетический контроль уровня концентрации каталазы является совершенно косвенным, поскольку хлорофилл, по-видимому, действует, главным образом поглощая или отражая разрушающие излучения и тем самым защищая каталазу.

Флавопротеин и резистентность к ядам у пневмококков

Севаг и Готц [559] исследовали механизм резистентности пневмококков ко многим ядам и получили некоторые интересные данные, которые могут иметь важное значение для разбираемого нами вопроса об изменении ферментов в результате мутации. К сожалению,

использованный о
ствие чего нево
изменений, кажу
чения о том, что
нения являются
ваться. Достаточн
вызваны теми же
половым размнож
результате воздей
ющиеся для роста
чить при воздейс
половым путем гр

Следует только
наследственности
низмов.

В разбираемом
клетки пневмокок
отдельные клетки
яду формы. Иначе
на протяжении и
протекающих в с
резистентных к а
нениями активно
тации. В качеств
гексозодифосфат,
Отмечены следую

СНО
|
(СНОН
|
СН₂ОН
Глюкоза

ДП

Флавопротеин

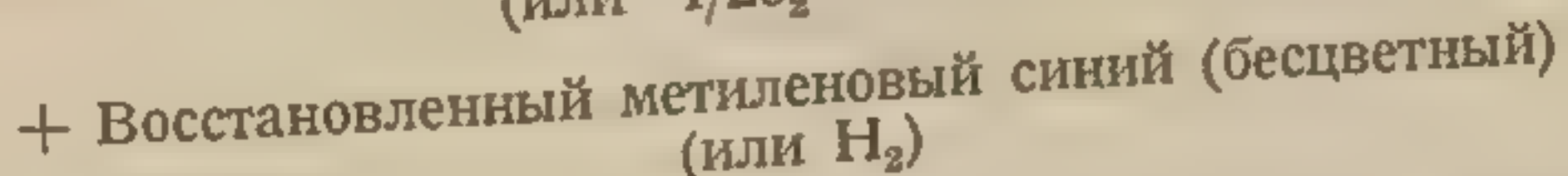
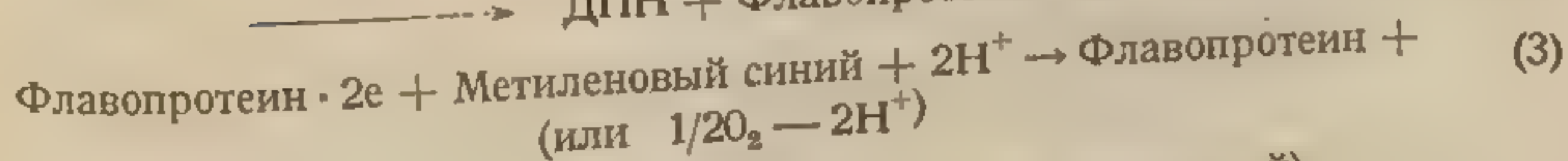
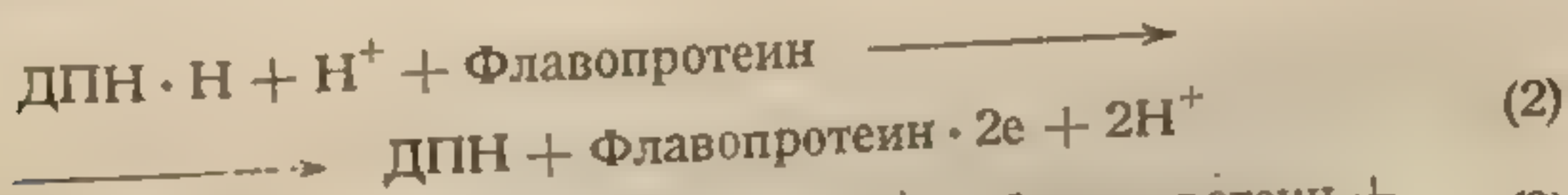
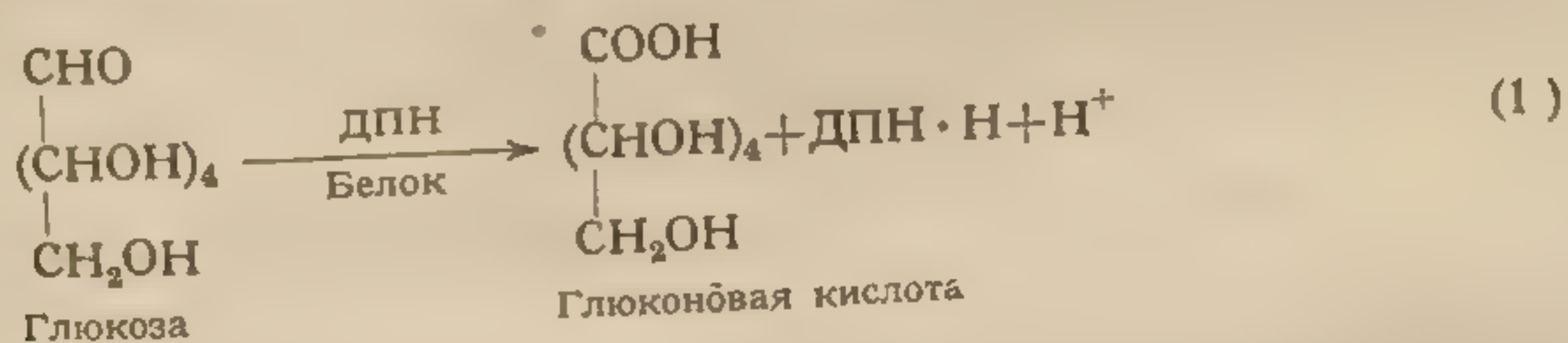
+ Вос

В качестве
обесцвечивания
вого синего. Б
дегидраз резист
активности пере
что препараты
значительно

использованный организм не размножается половым путем, вследствие чего невозможен соответствующий генетический анализ изменений, кажущихся наследственными. Доказательства заключения о том, что длительно сохраняющиеся у бесполой формы изменения являются результатом мутаций, не будут здесь рассматриваться. Достаточно констатировать, что такие изменения могут быть вызваны теми же методами, как и несомненные мутанты у форм с половым размножением, и что сходные типы явлений возникают в результате воздействий. Так, например, штаммы бактерий, нуждающиеся для роста в витаминах, аминокислотах и т. д., можно получить при воздействии излучения, так же как у размножающегося половым путем гриба *Neurospora*.

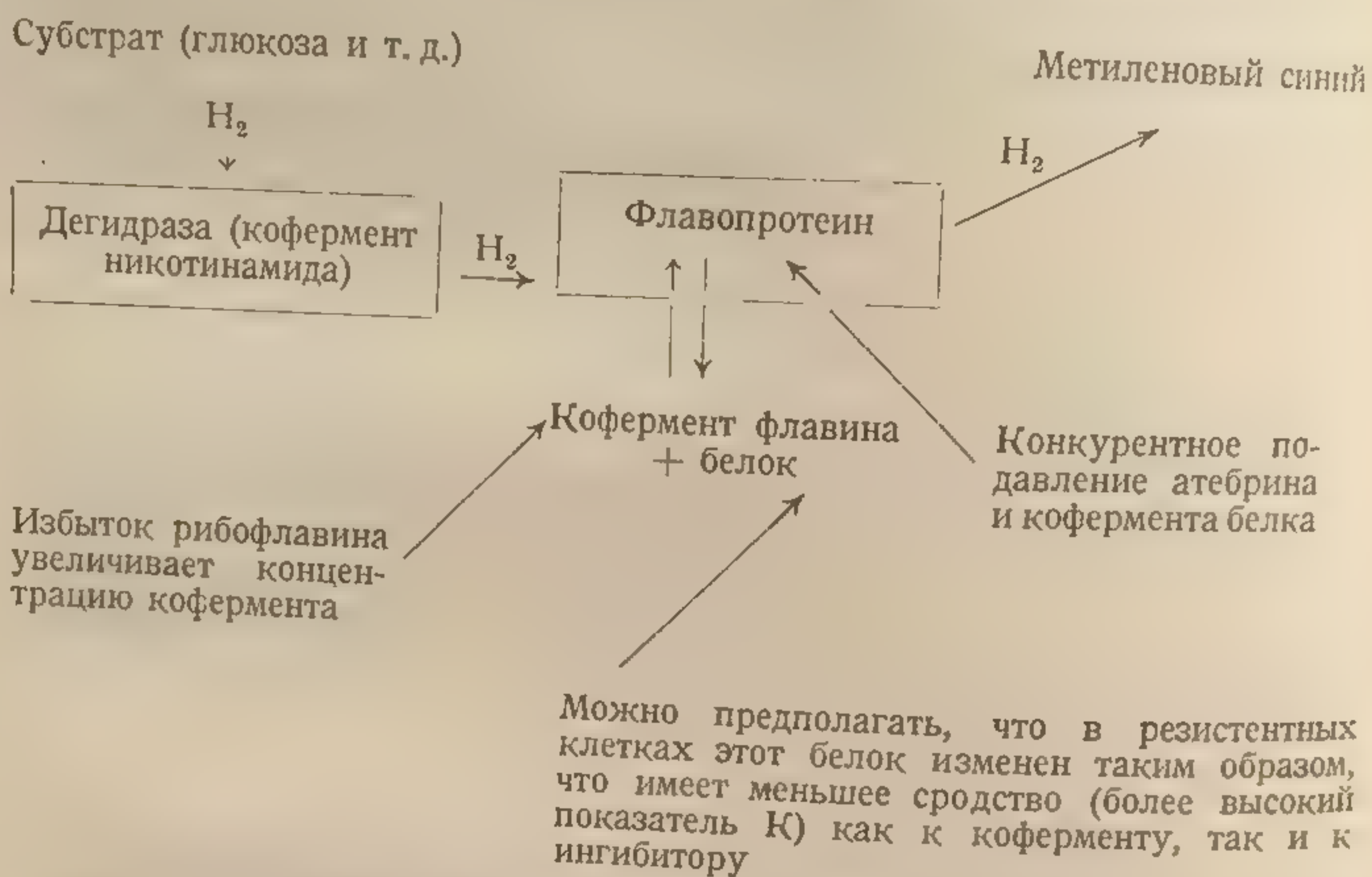
Следует только подчеркнуть, что у бесполой формы о механизме наследственности известно значительно меньше, чем у других организмов.

В разбираемом случае было обнаружено, что при воздействии на клетки пневмококков многих ядов, в том числе атебрина, и выделяя отдельные клетки, можно получить постоянные, резистентные к яду формы. Иначе говоря, клетки остаются резистентными к ядам на протяжении неопределенно большого числа клеточных делений, протекающих в отсутствие яда. Было обнаружено, что у клеток, резистентных к атебрину, эта резистентность сопровождается изменениями активности некоторых ферментативных реакций дегидратации. В качестве доноров водорода использовались глюкоза, гексозодифосфат, глицерин, молочная кислота и этиловый спирт. Отмечены следующие ступени такой реакции:



В качестве критерия использовали время, необходимое для обесцвечивания какого-то определенного количества метиленового синего. Было сделано наблюдение, что общая активность дегидраз резистентных к атебрину клеток равна примерно $1/3 - 1/5$ активности нерезистентных бактерий. Более того, было обнаружено, что препараты фермента, приготовленные из резистентных клеток, что препараты фермента, приготовленные из резистентных клеток, значительно более чувствительны к подавляющему действию атеб-

рина, чем та же самая система из нерезистентных клеток. Было обнаружено также и различие в резистентности фермента к высокой температуре. Дополнительным важным фактом является то, что добавление относительно высоких концентраций рибофлавина восстанавливает активность резистентных к атебрину систем до нормального уровня в присутствии или в отсутствие яда. Выводы, которые можно сделать из рассмотрения этих фактов, и дополнительные данные относительно того, что резистентные и нерезистентные клетки содержат одинаковое количество рибофлавина, суммированы на

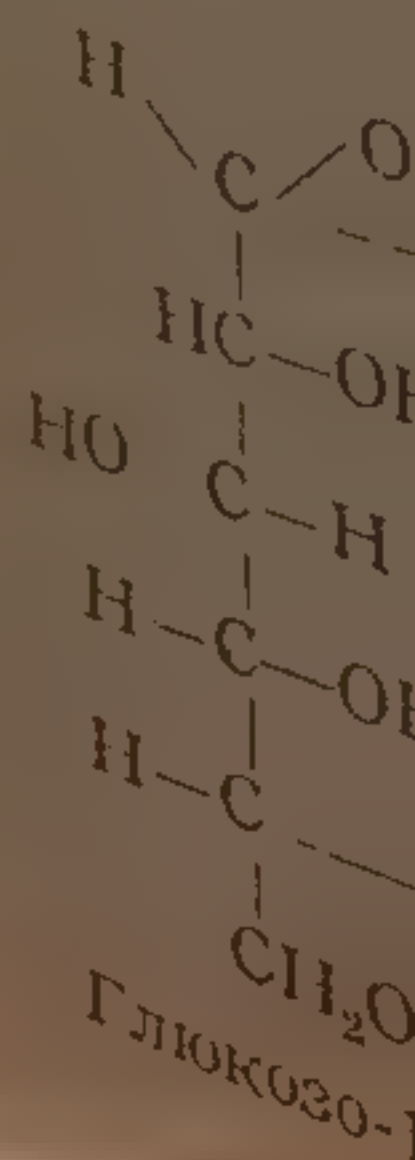
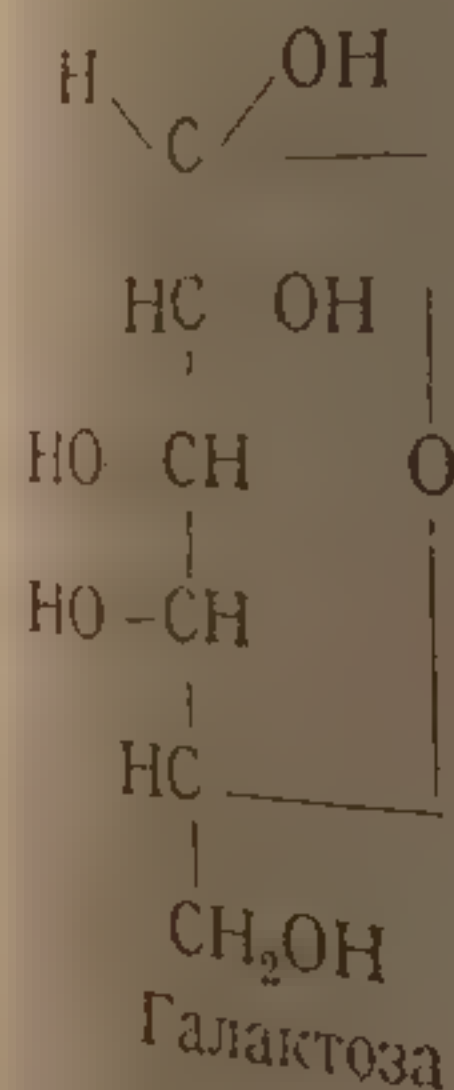


Фиг. 49. Итоги объяснения механизма резистентности к атебрину у *Pseudomonas*.

фиг. 49. Следует отметить, что суммирование экспериментальных данных указывает на образование резистентными бактериями белка с измененной специфичностью. Резистентность к атебрину относительно на, а уменьшенная активность дегидраз не является еще заметным лимитирующим фактором роста резистентных штаммов.

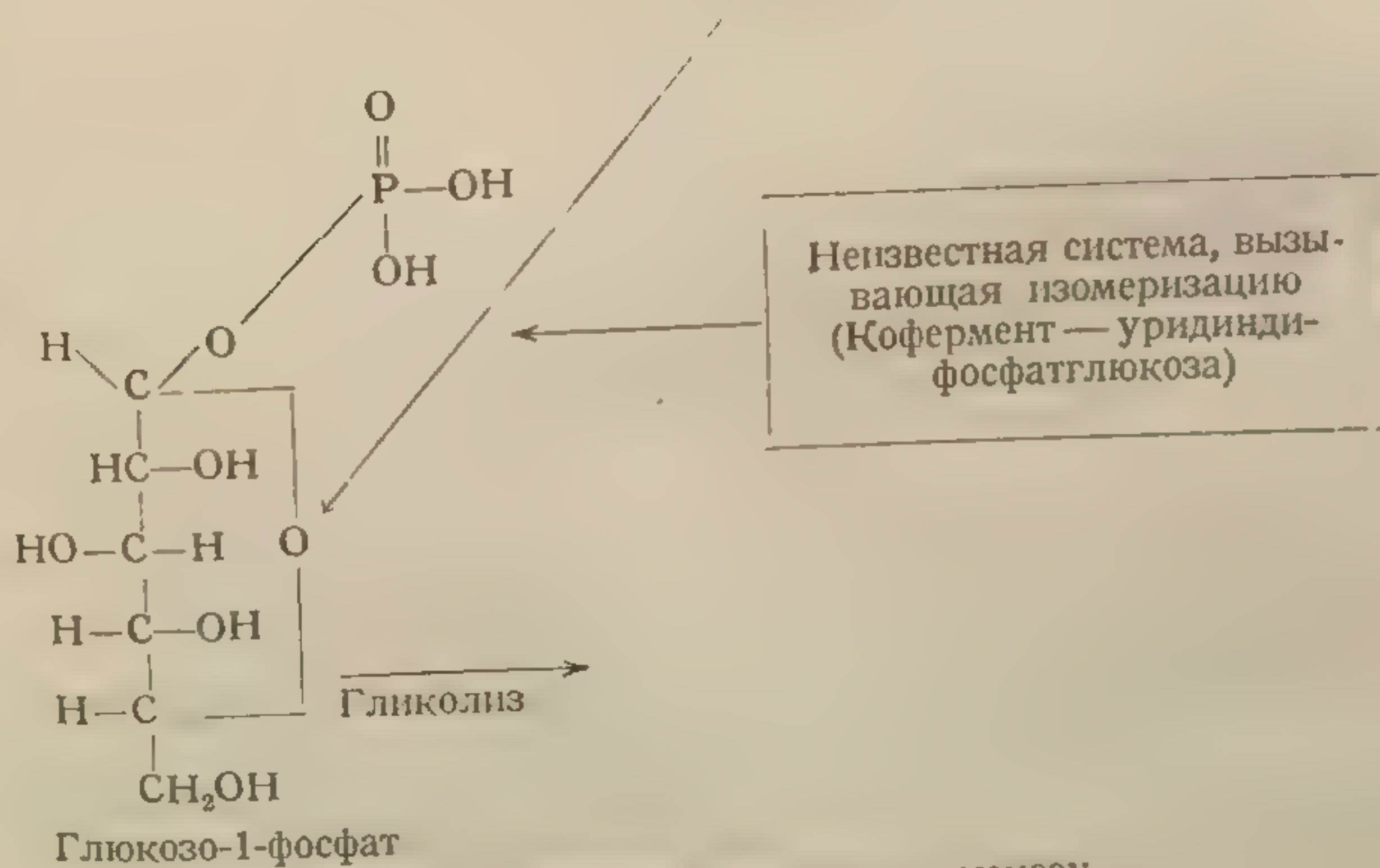
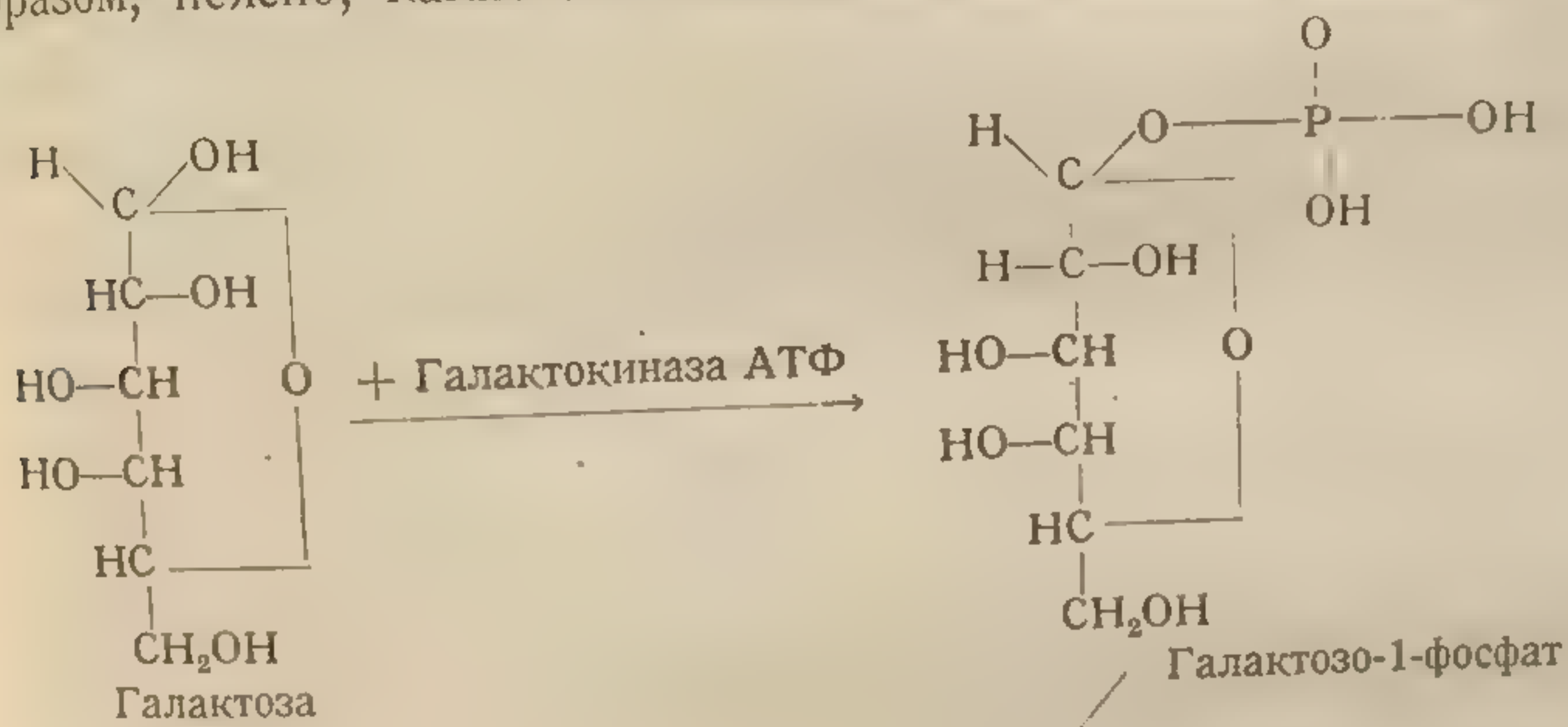
Приведенный выше пример особенно интересен в том отношении, что эти данные указывают на изменение специфичности белка, возникающее в результате вероятной мутации. Правда, эта система не может быть выделена и сравнена с нормальной, однако имеется достаточное количество работ по такого рода системам, чтобы составить прекрасную основу для проведения таких опытов. При рассмотрении генетической стороны вопроса следует указать, что резистентные к атебрину мутанты, обладающие теми же свойствами, могут быть получены сходным путем у организмов, где возможен генетический анализ.

Проведено бо-
к сбраживанию ра-
ментов проводилас-
адаптации фермен-
грибов, которые
которые сахара
присутствии субст-
ная способность
посредственная
вать (см. гл. XI).
анализированы на
образом, неясно, п



Бродильные ферменты

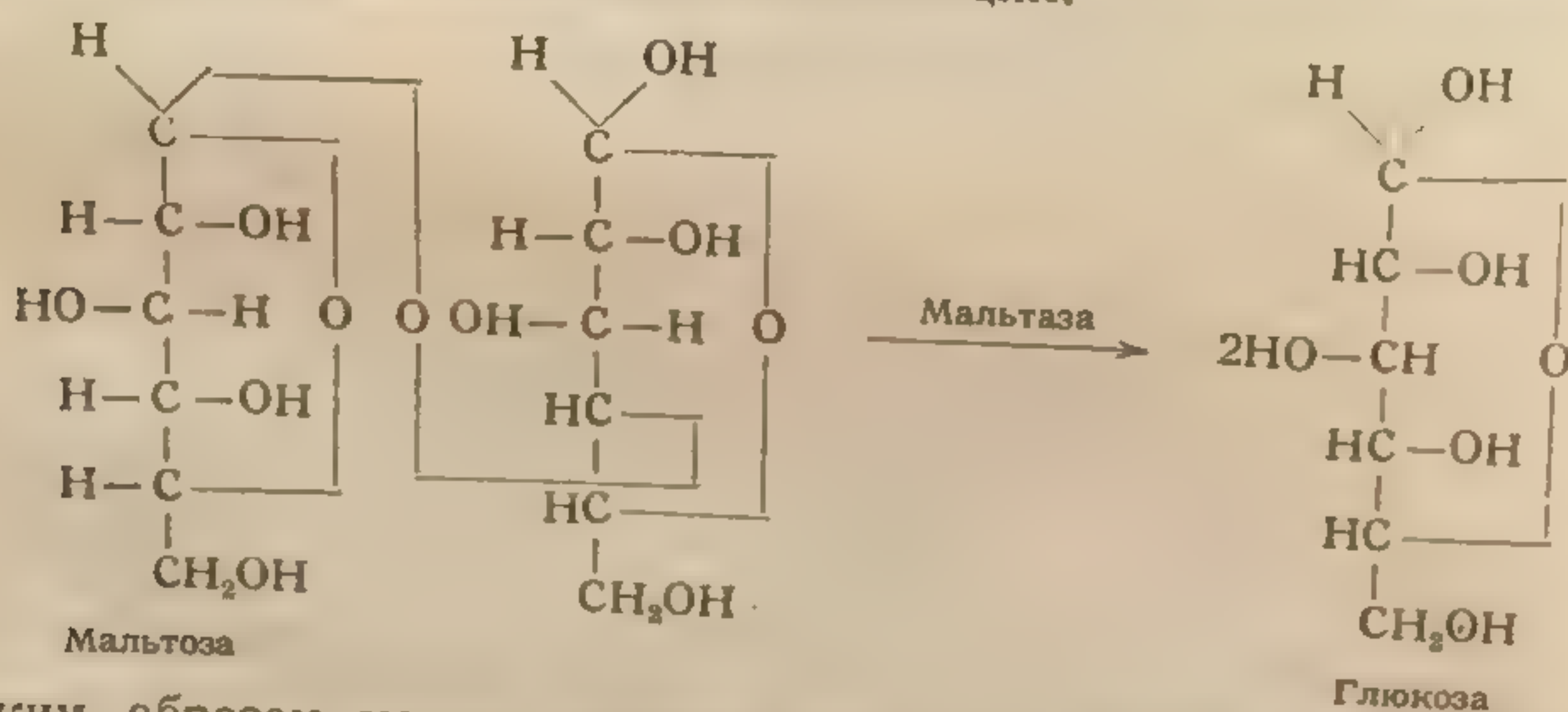
Проведено большое число работ по наследованию способности к сбраживанию различных углеводов. Большая часть этих экспериментов проводилась на живых клетках и в связи с возможностями адаптации ферментативной активности у дрожжей, бактерий и грибов, которые часто обнаруживают способность использовать некоторые сахара только после определенного периода инкубации в присутствии субстрата. Совершенно очевидно, что эта потенциальная способность к сбраживанию наследуется точно так же, как непосредственная способность или отсутствие способности сбраживать (см. гл. XI). В большинстве случаев эти явления не были проанализированы на основе выделенных ферментных систем, и, таким образом, неясно, какие же биохимические реакции наследуются.



Ф и г. 50. Изомеризация галактозы в глюкозу.

Можно предполагать, что у дрожжей действие наследственных систем брожения, приводящих к сбраживанию лактозы, раффинозы, мальтозы и галактозы, основано на превращении их в нормально сбраживаемый сахар, такой, как глюкоза, который в свою очередь расщепляется обычным образом (см. стр. 144). Если это действительно так, то реакции, зависящие от наследственных признаков, связаны с превращением субстрата в другой, участвующий в нормальной системе. Так, например, было показано, что дрожжи, способные сбраживать галактозу, осуществляют эту реакцию при помощи системы, представленной на фиг. 50 [89]. Таким образом, превращение галактозы в субстрат, пригодный для гликолитической системы, осуществляется в две ступени: фосфорилирование при помощи гексокиназы, отличной от действующей на глюкозу, маннозу или фруктозу, и изомеризация с перемещением группировок при четвертом атоме галактозы. Гексокиназа галактозы была очищена, и, таким образом, первая ступень реакции была отделена от второй, однако механизм и компоненты, участвующие во второй реакции, недостаточно хорошо известны. Можно предполагать участие другого фермента с уридиндифосфатглюкозой в качестве кофермента. До настоящего времени нет данных относительно того, какая часть этой системы не действует в штаммах дрожжей, не способных сбраживать глюкозу. Эта система, без сомнения, может быть не единственной, участвующей в этом процессе.

Первичная реакция при сбраживании мальтозы может быть несколько проще соответствующей реакции для галактозы. Фермент мальтаза довольно широко распространен среди микроорганизмов и найден также в кишечнике млекопитающих.



Таким образом, можно предполагать, что генетический контроль сбраживания мальтозы связан с образованием мальтазы. С другой стороны, в этом процессе может участвовать фермент, осуществляющий фосфоролитическое расщепление. В действительности существуют данные, говорящие о том, что вопрос, возможно, гораздо более сложен, чем это отмечалось выше. Моно и Терриани [436] и Дудоров и другие [149] исследовали мутанты *Escherichia coli*, способные быстро сбраживать мальтозу и только слабо глюкозу.

Было обнаружено (который из них содержит фермент полисахаридазы. Этот процесс образования между мутантами и диким типом

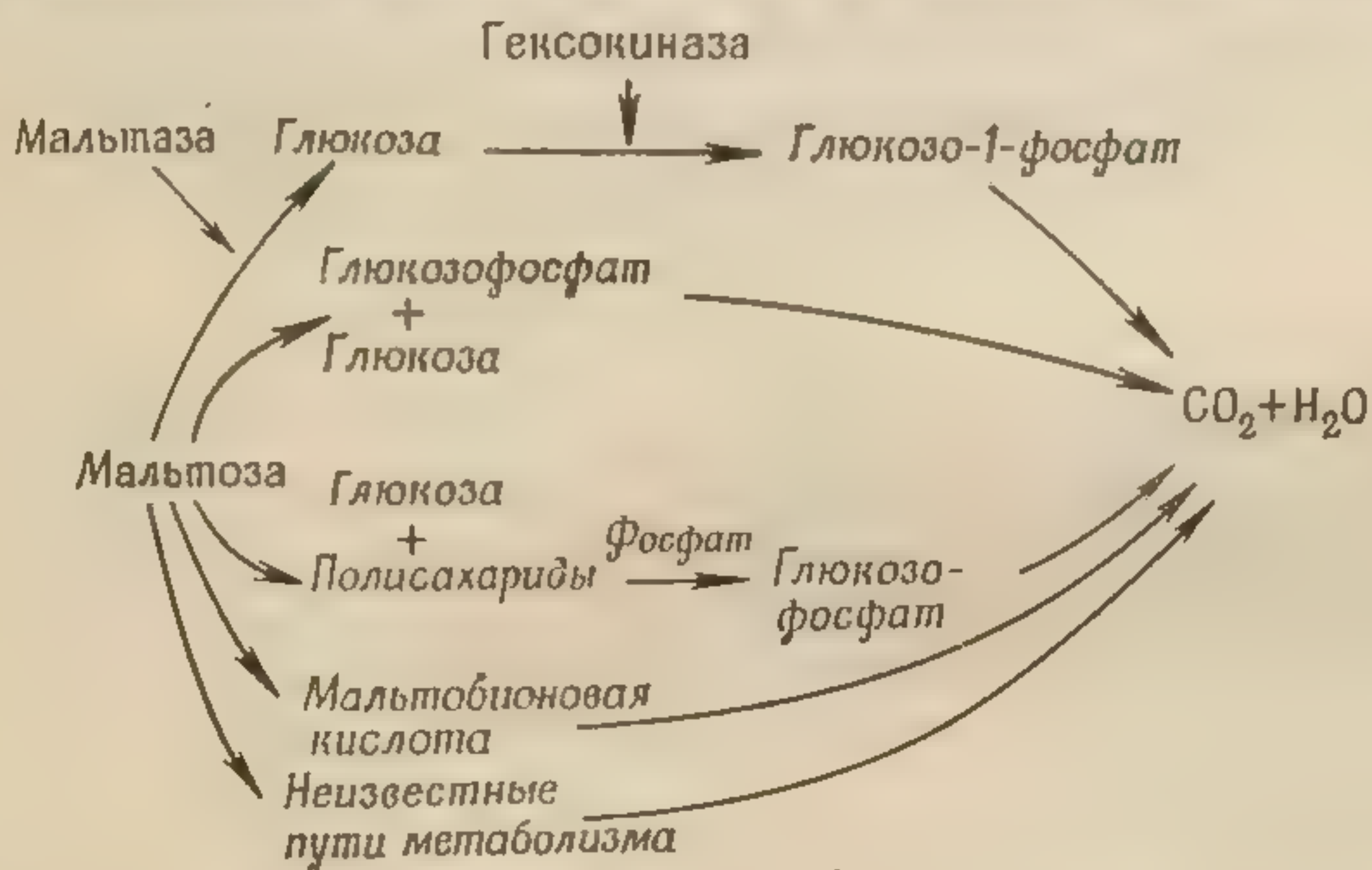
Мальтаза

Мальтаза

Фиг. 51.

что амилазы группы мальтазы без образования. Другой тип мальтозы до мальтозы превращается. Значение мальтозы в питании дрожжей. В литературе даны соответствующие биохимические данные о способности мальтозы к образованию глюкозы. К сожалению, в которых ферменты мальтозы и мальтозы (см. гл. 1) мутация привела к образованию мальтозы

Было обнаружено, что как мутантный, так и родительский штамм (который одинаково быстро сбраживает и мальтозу и глюкозу) содержит фермент «амиломальтазу», превращающий мальтозу в полисахарид с молекулой, способной давать с йодом синее окрашивание. Этот полисахарид может быть в дальнейшем расщеплен с образованием глюкозо-1-фосфата и фруктозо-6-фосфата. Различие между мутантом и диким типом не объясняется при помощи этого окольного механизма обмена веществ мальтозы. (Следует отметить,



Фиг. 51. Некоторые возможные пути сбраживания мальтозы.

что амиломальтаза катализирует обратимые реакции при обмене группами между полисахаридами с молекулами различной величины без образования фосфорных эфиров.)

Другой тип реакции мальтозы исследован Стодола и Локвудом [612]. Они наблюдали, что некоторые виды *Pseudomonas* окисляют мальтозу до мальтобионовой кислоты. Свободная альдегидная группа мальтозы превращается в карбоксил без разрыва глюкозидной связи. Значение такого типа обмена для других организмов, как например дрожжи, неизвестно. Во всяком случае, можно попытаться дать соответствующее общее описание некоторых из существующих возможностей обмена веществ, которые должны иллюстрировать биохимические проблемы, встающие при исследовании наследования способности сбраживать мальтозу. Как показано на фиг. 51, возможно одновременное существование многих взаимосвязанных путей обмена веществ.

К сожалению, известно относительно небольшое число примеров, в которых вероятные мутации одного гена приводили бы к изменениям ферментных комплексов, таких, как содержащиеся в митохондриях или микросомах, хотя в связи с вопросом о цитоплазматической наследственности эти единицы привлекали большое внимание (см. гл. XII). Эфрусси и сотрудники [170, 172] описали штамм дрожжей расщепляющий карликов, в которых единичная мутация привела к утрате, в пределах чувствительности применяв-

шихся аналитических методов, ряда компонентов системы оксидазы янтарной кислоты. В их числе были дегидраза янтарной кислоты, цитохром *b* и цитохром *a*. Цитохром *c* присутствует в почти в 2 раза большем количестве. Такие штаммы дрожжей респираторно более или менее нормально в отсутствие кислорода, однако в присутствии кислорода они используют глюкозу со скоростью, не составляющей и 10% нормальной. Такой результат можно было ожидать на основании наблюдений о влиянии отсутствия компонентов системы

Таблица 26
Изменения сложных ферментных систем у *Saccharomyces* и *Neurospora*, возникшие в результате генных мутаций

Линия	Дегидраза янтарной кислоты	Цитохром			Оксидаза янтарной кислоты	Цито- хром <i>e</i>	Цито- хрома- за
		<i>b</i>	<i>c</i>	<i>a</i>			
Нормальные дрожжи	+	+	+	+	+	—	?
Дрожжи (расщепляющийся карликовый)	—	—	+++	—	—	—	?
<i>Neurospora</i> , дикий тип	+	+	+	+	+	—	—
<i>Neurospora</i> C115	+	+	+++	—?	+	—	?
<i>Neurospora</i> C117	+	+++	—	—	—	+++	+

оксидазы янтарной кислоты. У *Neurospora* описаны две до некоторой степени аналогичные мутантные линии [429]. Одна из них (линия C115) содержит избыток цитохрома *c* в крупных цитоплазматических частицах (митохондриях), ненормально низкий уровень цитохрома *b* и мало или совсем не содержит цитохрома *a*. Вторая линия (C117) содержит крупные частицы, обнаруживающие большой избыток компонента гема со спектром поглощения цитохрома *b*. Присутствует также вещество со свойствами, сходными с цитохромом *e* [654]. Этот компонент не наблюдался у *Neurospora* дикого типа. У мутанта отсутствуют цитохромы *c* и *a* и не обнаруживается активности оксидазы янтарной кислоты, как можно было бы ожидать. Мутант содержит другую систему, а именно систему, разрушающую цитохромы («цитохромаза»), не найденную у нормального гриба (см. стр. 338). Наблюдавшиеся изменения ферментных систем, связанных с крупными цитоплазматическими частицами, которые возникли в результате мутаций одного гена, суммированы в табл. 26 (см. также фиг. 99, стр. 339).

Эти результаты показывают, что мутации отдельных генов могут вызывать глубокие изменения целых ферментных комплексов, вследствие чего, по-видимому, невозможно связать предполагаемое действие гена с образованием какого-либо одного фермента. В действительности в табл. 26 перечислены только те изменения крупных частиц, которые удалось наблюдать, и еще остается установить,

какие другие ферменты
уже известно, что
дрожжей обнаружены
молочной кислоты
так и растворимые
материалы, большее
ного, по-видимому
примеры влияния
ных комплексов не
случаи, когда как
действием гена и
гаемых более про
изменения.

Нет никаких со
лиям способности к
Совершенно очевид
ний обусловлены
ности ферментов, ф
кулярных систем, к
специфического ти
ориентацию молеку
ются ли эти едини
действия гена. Они
которых подвержен
ных катализаторов
ках. Если это верно
разования или раз
кислоты или полис
что клетки или тка
со сходной, но не
действием, то есте
возникают одна из
снове можно объ
ношений гена и фер
С другой стороны
гласно которой спе
определяется пря
чество модели или
подтверждающие эт
связей генов и ферм
хорошо объяснить
суждавшейся точн
сделать вывод, что
возможных мутац
нимать

какие другие ферментативные функции изменены в этих системах. Уже известно, что фракция растворимых ферментов «petite» линий дрожжей обнаруживает вдвое большую активность дегидразы молочной кислоты, чем нормальные линии [568], и что как частицы, так и растворимые ферменты мутантов *Neurospora* содержат ненормально большое количество флавинадениндинуклеотида, связанного, по-видимому, с активностью специфических ферментов. Эти примеры влияния изменений гена на строение и активность ферментных комплексов не обязательно являются более сложными, чем те случаи, когда как будто бы наблюдается простая зависимость между действием гена и образованием единичного фермента. В предполагаемых более простых случаях обычно не искали множественные изменения.

НЕКОТОРЫЕ ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

Нет никаких сомнений в том, что мутации приводят к изменениям способности клеток к осуществлению биохимических реакций. Совершенно очевидно также, что многие из наблюдавшихся изменений обусловлены изменениями количества, качества или активности ферментов, ферментных комплексов или других макромолекулярных систем, которые подвергаются химическим комбинациям специфического типа и, таким образом, вызывают определенную ориентацию молекул. Остается еще открытым вопрос о том, являются ли эти единицы или системы непосредственными продуктами действия гена. Они являются сами по себе метаболитами, каждый из которых подвержен химическим изменениям под влиянием различных катализаторов негенной природы, существующих в живых клетках. Если это верно, то прямое действие гена необязательно для образования или разрушения специфического белка, нуклеиновой кислоты или полисахарида. Так, например, если можно показать, что клетки или ткань содержат больше одного типа молекул белка со сходной, но не идентичной структурой или каталитическим действием, то естественно предположить, что сходные молекулы возникают одна из другой в результате действия фермента. На этой основе можно объяснить все описанные выше примеры взаимоотношений гена и фермента.

С другой стороны, достаточно общепризнанна точка зрения, согласно которой специфичность ферментов и других макромолекул определяется прямым действием гена, причем гены служат в качестве модели или шаблона. Прямые экспериментальные данные, подтверждающие эту точку зрения, отсутствуют, однако все примеры связей генов и ферментов, приведенные в этой книге, можно так же хорошо объяснить на основании этих данных, как исходя из уже обсуждавшейся точки зрения о непрямом действии гена. Естественно сделать вывод, что эти крайние точки зрения указывают пределы возможных механизмов действия гена. Совсем необязательно принимать, что все гены должны действовать тем же самым способом,

так что каждый из известных в настоящее время ферментов или других специфических макромолекул может быть как непосредственным, так и совершенно косвенным продуктом действия гена. Возможно, что действие гена описывается лучше всего тем же самым способом, как действие любого другого фактора, влияющего на течение биохимической реакции (см. фиг. 65, стр. 226). Иначе говоря, ген может служить катализатором или ингибитором при образовании или разрушении некоторого компонента клетки, а его первичное действие состоит во влиянии на баланс скоростей реакций.

Гены осуществляют действие на биохимические вещества; поэтому их действие можно считать наследственной функцией. Возможно полное или частичное изменение активности генов, так же как и изменение активности ферментов. Ген контролирует и катализаторную функцию ферментов. Биохимическая проблема заключается в том, как известно, что многие биохимические реакции регулируются системами, содержащими ферменты, но возможные системы достоверны.

Следует отметить, что цепь реакций, включающая субстраты и продукты, является важной частью биохимического процесса.

Глава VIII

ПУТИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

Гены осуществляют свое действие, регулируя процесс обмена веществ; поэтому для проникновения в сущность явления наследственности необходимо не только установить факт существования наследственных единиц и выяснить механизмы их передачи, но также возможно полнее изучить биохимию клетки. Иначе говоря, необходимо так же точно знать, что контролируется, как и то, что контролирует и как осуществляется этот контроль. Эта чисто биохимическая проблема привлекла большое внимание совершенно независимо от ее интереса для генетики, так что в настоящее время нам известны многие детали большого числа происходящих в организме химических реакций. Большинство этих реакций изучено в изолированных системах различной степени сложности, таких, например, как содержащие сильно очищенные отдельные ферменты или смеси очищенных ферментов. Эти методы позволяют выяснить потенциально возможные скорости реакций в тканях и как таковые они вполне достоверны.

Следует отметить, что даже в том случае, если всю последовательную цепь реакций удастся представить, исходя из известных субстратов и отдельных очищенных ферментов, это еще не будет доказывать важного значения этого ряда реакций или даже тот факт, что они действительно совершаются *in vivo*. Экспериментальные биохимические методы, при которых используются выделенные из клетки единицы, такие, как ядро или митохондрии, или методы, связанные с применением гомогенатов или срезов тканей, несомненно, позволяют получить данные, более близкие к тому, что происходит в живых неповрежденных тканях. Однако даже эти методы не дают полной картины, и часто бывает трудно объяснить полученные результаты. Так, по мере того как биохимические системы, используемые в экспериментальной работе, становятся все более подобными наблюдающимся в живых неповрежденных клетках, необычайно возрастают возможности взаимодействия происходящих в организме многочисленных отдельных реакций. Кроме того, очевидно, что эти взаимодействия могут быть усилены или ослаблены вследствие наличия внутриклеточной организации. Иначе говоря, если две потенциально взаимодействующие системы (возможно, через общий субстрат, кофермент или фермент) находятся

в одной и той же клеточной частице, то можно ожидать получения иного результата, чем в том случае, когда системы находятся в различных частицах или участках неповрежденной клетки.

Таким образом, генетическая регуляция обмена веществ не менее сложна, чем сам процесс обмена веществ. Для понимания этой проблемы необходимо учитывать влияние клеточной организации и концепцию динамического состояния метаболизма, а также представление о метаболических возможностях организма с точки зрения единичных биохимических реакций. Именно по этим причинам в данной книге делается упор, по крайней мере в отношении эффекта мутаций, скорее на изменения скоростей реакции, чем на присутствие или отсутствие абсолютной способности к проведению специфических биохимических реакций. Вполне можно себе представить, что даже небольшое изменение скорости реакции (на несколько процентов) может обусловить различие между черной и белой окраской шерсти у млекопитающих или даже между жизнью и смертью организма. Безусловно, необходимо также учитывать, что изменение скорости одной реакции с неизбежностью приведет к изменению скоростей взаимосвязанных реакций, так что конечное выражение кажущегося простым изменения в действительности очень сложно вследствие такого нарушения существующих путей обмена веществ.

Большинство обсуждавшихся выше вопросов уже рассмотрено более детально в предыдущих главах, однако они рассматриваются здесь повторно вследствие того, что их необходимо иметь в виду при обсуждении значения выводов, к которым приводит изучение мутантов, для выяснения путей обмена веществ. Как отмечено в гл. V, принципы, на которых основан этот подход к проблеме, очень просты. Предполагается, что мутация приводит к утрате способности к осуществлению какой-то биохимической функции. Если это изменение летально вследствие отсутствия некоторой ступени в биосинтезе необходимого метаболита, то добавление этого метаболита в качестве дополнительного элемента питательной среды может ослабить действие мутации и организм выживет. Как отмечено выше (стр. 118—119), таким путем можно изучить целую цепь реакций, используя серию различных мутантов, обнаруживающих потребность в одном и том же метаболите. В тех случаях, когда возможно осуществить эту процедуру, она действительно оказывается ценным методом, и, как будет показано, при помощи этого метода выполнено много работ, пополнявших наши знания о природе путей обмена веществ. Существуют, однако, некоторые ограничения и осложнения при использовании этого метода, которые следует рассмотреть. Как отмечалось на стр. 112—113, прямые эксперименты показали, что класс мутаций, связанных с изменением потребностей в питательных веществах, который используется при изучении путей обмена веществ у *Neurospora*, представляет собой не более чем $\frac{1}{10}$ всех мутантов, получающихся в опытах по искусственному вызыванию мутаций. Это, очевидно, максимальное число, поскольку в качестве критерия для отбора мутаций служил рост. По одной только этой причине нельзя ожи-

дать, что все варианты будут представлены. Нет сомнения в наличии мутантов и на основании кота отбора даже в от этого. Ход опытов способностью ис в окружающей мутанты, нужда молекулами, не Кроме того, не которые вызыва У дрожжей [169] саны мутанты, в Они растут, хотя представляют со мутаций. Можн стемы, находя характерен быс тате взаимного давать линии, и условий.

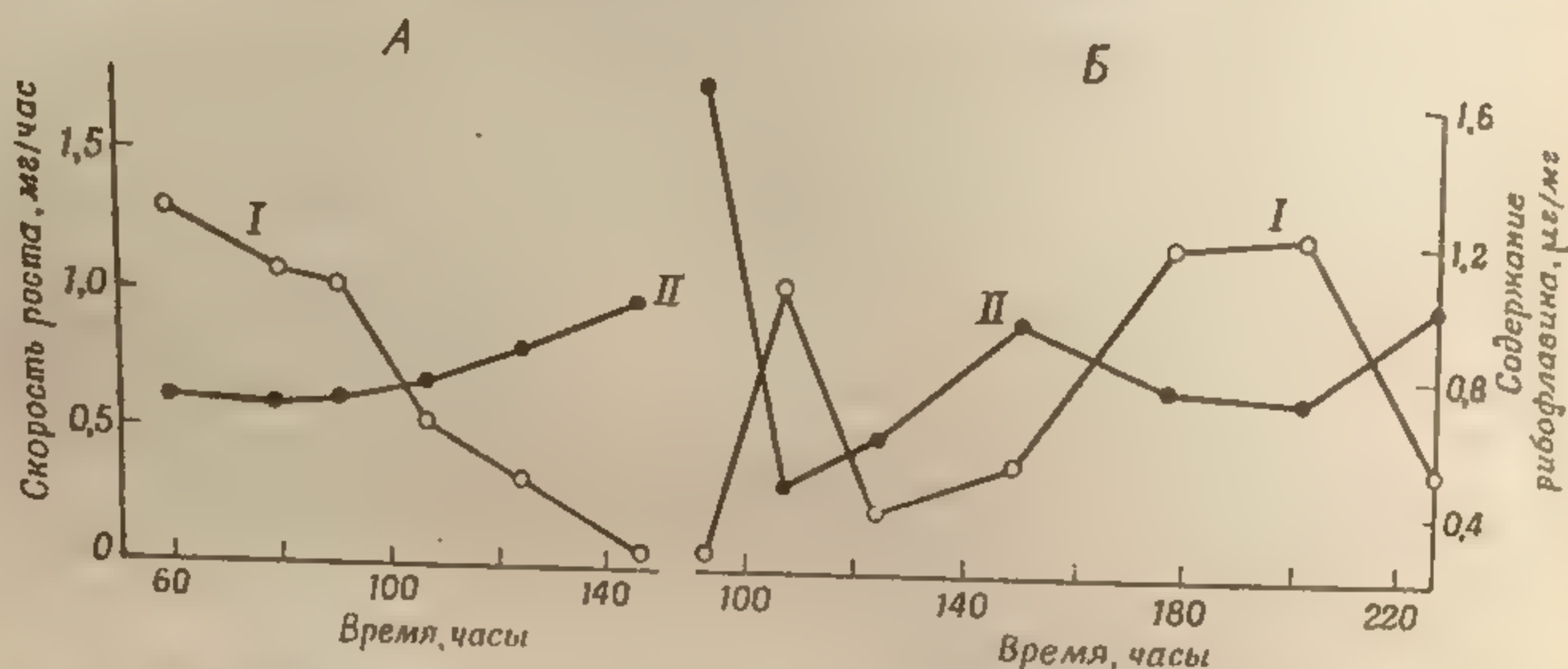
Другое свой мена веществ, биохимических условиях к час ваются больши линий не всегда действия всегда того, чтобы с ческого блоки которые не обн убедительный нуждающегося линия способн совсем не раст ребность в ви температурах. Ча туре мутантов существовании при изучении 34° были полу При такой тем однако в прио мина происхо Други

дать, что все важные реакции обмена веществ или цепи реакций будут представлены среди обычно получаемых мутантов.

Нет сомнения в том, что и у других организмов в процессе выделения мутантов происходит такой же отбор. Имеется много причин, на основании которых следует ожидать наличия подобного же рода отбора даже в отсутствие прямых экспериментальных доказательств этого. Ход опыта зависит от отбираемых мутантов, обладающих способностью использовать необходимые метаболиты, находящиеся в окружающей среде. Так, например, будут элиминированы все мутанты, нуждающиеся в веществах с крупными или мелкими молекулами, не способными проходить через клеточные мембраны. Кроме того, не удастся обнаружить линии, несущие мутации, которые вызывают серьезные нарушения клеточной организации. У дрожжей [169], высших растений [154] и *Neurospora* [429] описаны мутанты, вызывающие нарушения в организованных системах. Они растут, хотя и плохо, в соответствующих условиях и, вероятно, представляют собой примеры относительно слабо дезорганизующих мутаций. Можно также ожидать, что мутации, влияющие на системы, находящиеся в динамическом равновесии, для которых характерен быстрый круговорот или выделение энергии в результате взаимного превращения большого числа соединений, могут давать линии, неспособные выживать вне зависимости от внешних условий.

Другое свойство мутантов, важное для исследования путей обмена веществ, связано с частичным генетическим блокированием биохимических реакций. Многие из мутаций, приводящих в обычных условиях к частичному блокированию, несомненно, не обнаруживаются большинством исследователей, поскольку фенотипы таких линий не всегда четко отграничены и часто варьируют вследствие действия всегда присутствующих генов-модификаторов. Однако для того, чтобы с очевидностью показать явление частичного генетического блокирования, нет необходимости исключать мутанты, которые не обнаруживают достаточного падения активности. Очень убедительный пример получен в ранних исследованиях мутанта, нуждающегося в рибофлавине, у *Neurospora*. Было показано, что эта линия способна расти без рибофлавина при 25°, однако при 35° она совсем не растет в отсутствие витамина (стр. 296). Частичную потребность в витамине можно обнаружить при промежуточных температурах. Частое возникновение таких чувствительных к температуре мутантов является само по себе убедительным доказательством существования частичного генетического блокирования реакций, но при изучении поведения мутантов, нуждающихся в рибофлавине, при 34° были получены даже более поразительные доказательства этого. При такой температуре без добавления флавина рост не наблюдается, однако в присутствии хотя бы очень небольшого количества витамина происходят и рост и синтез витамина, как это показано на фиг. 52. Другие примеры мутантов, как чувствительных, так и не чувствительных к температуре, были найдены среди мутантов *Neuro-*

spora, нуждающихся в аденине [420] и пиримидине [421]. Дальнейшая работа Бонне и сотрудников [57], также с мутантами *Neurospora*, проведенная с использованием меченых атомов, ясно показала частичное генетическое блокирование реакций в случае



Фиг. 52. Образование рибофлавина у *Neurospora* линией дикого типа (А) и мутантом, нуждающимся в рибофлавине при 34° (Б) [419].

I — скорость роста, II — содержание рибофлавина. Культуры росли в присутствии лимитирующих концентраций рибофлавина (0,015 μ г на 1 мл культуральной среды).

некоторых мутантов, нуждающихся в триптофане. Некоторые данные суммированы в табл. 27. (См. на фиг. 53 описание путей обмена веществ, в которых участвует триптофан.) Особое внимание следует обратить на результаты, полученные с мутантом С83, которые представляют собой наиболее убедительное доказательство того, что мутации, вызывающие полное блокирование весьма важной реакции, могут не давать полностью летального эффекта. Однако даже этот

Таблица 27
Частичное блокирование у мутантов *Neurospora*, нуждающихся в триптофане, в опытах с соединениями, меченными N^{15} [57]

№ линии	Соединение, меченное N^{15} , содержащееся в среде	Выделенное соединение	Содержание N^{15} в выделенных соединениях в процентах от общего количества выделенного изотопа
39 401 7 655	Анраниловая кислота Анраниловая кислота	Ацетилтриптофан	67
10 575	Индол	Хинолиновая кислота Ацетилтриптофан	37 40
С83	Триптофан	Хинолиновая кислота Ацетилтриптофан Хинолиновая кислота	80 75 98,9 94,3

случай не представляет синтеза триптофана (верным), поскольку триптофана, способ соединений, могут ных реакциях, что жет осуществить шественника в тр изучения фермен линии С83 по мет (стр. 175, гл. V большое число ме нуть, нуждаются тальных результа выяснения прирo нуждающиеся в ным генетически единственного мo синтезировать до ром ощущалась полным. С таког *Neurospora* 39 40 триптофан, если чества ниацина.

Прежде чем вскрытых благо на то, какие да ствительно ли шеством в про На этот вопро рассматриваем вообще не суще состоянии. Так могут использо помощи фосфо соединение в коферментов с изоаллооксази ранее полиок рибофлавин с тов. Тот же п теза, и действ того, что это и сом об образ лоты. Предпола одним мутант серии

случай не представляет собой доказательства полного отсутствия синтеза триптофана (предполагая отклонение от 100% недостоверным), поскольку в проведенных экспериментах предшественники триптофана, способные вызвать разбавление выделенных меченых соединений, могут просто быть так быстро использованы в побочных реакциях, что малоэффективная ферментная система не сможет осуществить превращение значительного количества предшественника в триптофан. Прямые доказательства, основанные на изучении фермента, которые показали, что синтез триптофана в линии C83 по меньшей мере малоэффективен, обсуждались раньше (стр. 175, гл. VII). Эти экспериментальные данные, так же как большое число менее прямых доказательств, которые можно упомянуть, нуждаются в рассмотрении при истолковании экспериментальных результатов, полученных при изучении мутантов с целью выяснения природы путей обмена веществ. Так, например, мутанты, нуждающиеся в определенных питательных веществах, с частичным генетическим блокированием растут в присутствии одного-единственного метаболита, если частичное блокирование позволяет синтезировать достаточное количество другого метаболита, в котором ощущалась бы необходимость, если бы блокирование было полным. С такого рода положением мы встречаемся в случае линии *Neurospora* 39 401 (см. табл. 27), которая способна синтезировать триптофан, если растет в присутствии весьма незначительного количества ниацина.

Прежде чем перейти к обсуждению путей обмена веществ, вскрытых благодаря изучению мутантов, следует обратить внимание на то, какие данные необходимы для того, чтобы установить, действительно ли данное соединение является промежуточным веществом в процессе биосинтеза какого-либо другого метаболита. На этот вопрос нельзя дать простой ответ. Многие из веществ, рассматриваемых нами как важные питательные вещества, могут вообще не существовать в синтезирующих их клетках в свободном состоянии. Так, например, мутанты, нуждающиеся в рибофлавине, могут использовать витамин из внешних источников только при помощи фосфорилирующей системы, способной превращать это соединение в функциональную форму кофермента. Биосинтезу коферментов флавина также может предшествовать образование изоаллооксазиновой кольцевой системы в уже фосфорилированном ранее полиоксисоединении. Таким образом, необязательно сам рибофлавин служит предшественником содержащих его коферментов. Тот же принцип можно применить ко многим случаям биосинтеза, и действительно существуют непосредственные доказательства того, что это имеет место, что и будет обсуждаться в связи с вопросом об образовании гистидина и компонентов нуклеиновой кислоты.

Предполагается, что когда какое-либо соединение накапливается одним мутантом из серии и используется другим мутантом той же серии, то его можно рассматривать как промежуточное. Такова

обычно принимаемая и применяемая на практике точка зрения, однако такого рода данные не доказывают ее. Они могут только означать, что соединение может быть образовано и снова превращено в истинное промежуточное вещество даже не обязательно тем же самым путем. Эксперименты с выделенными ферментами могут дать требующиеся доказательства. Так, если соединение А превращается в соединение В в результате катализа одним ферментом, а соединение В превращается в соединение С при помощи другого единичного фермента, тогда вещество В можно рассматривать как промежуточное при превращении А в С. К сожалению, такой подход часто не применим на практике, особенно в случае исследования организованных ферментных систем, в которых нельзя выделить активность отдельных ферментов. В таких случаях не кажется невероятным, что промежуточные вещества в биосинтезе на самом деле представляют собой комплексы фермент — субстрат, так что в любом случае выделение активного начала должно дать ошибочный результат.

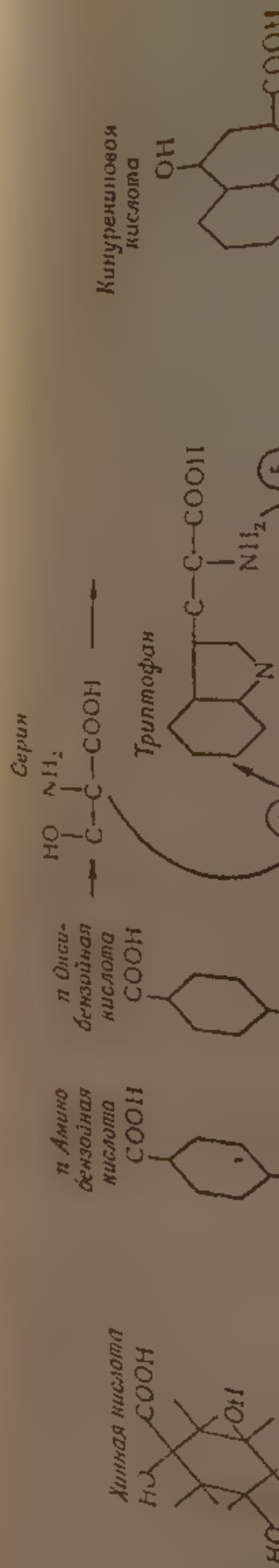
Очевидно, другие проблемы также осложняют процесс установления путей обмена веществ при помощи изучения мутантов, и по крайней мере некоторые из них отмечены в более специальной части обсуждения, которая следует далее. Рассмотренные пути обмена веществ представляют собой общие картины процессов, лишенные по большей части деталей, причем на каждой ступени цепи реакций лишь изредка учитывается природа более чем одного реагирующего вещества или продукта реакции. Иначе говоря, внимание обычно сосредоточивается на биохимических изменениях, происходящих при образовании или разрушении некоторых главных углеродных цепей или других структурных единиц. Это является удобным в целях описания, однако следует предупредить против создаваемой таким образом иллюзии простоты процесса.

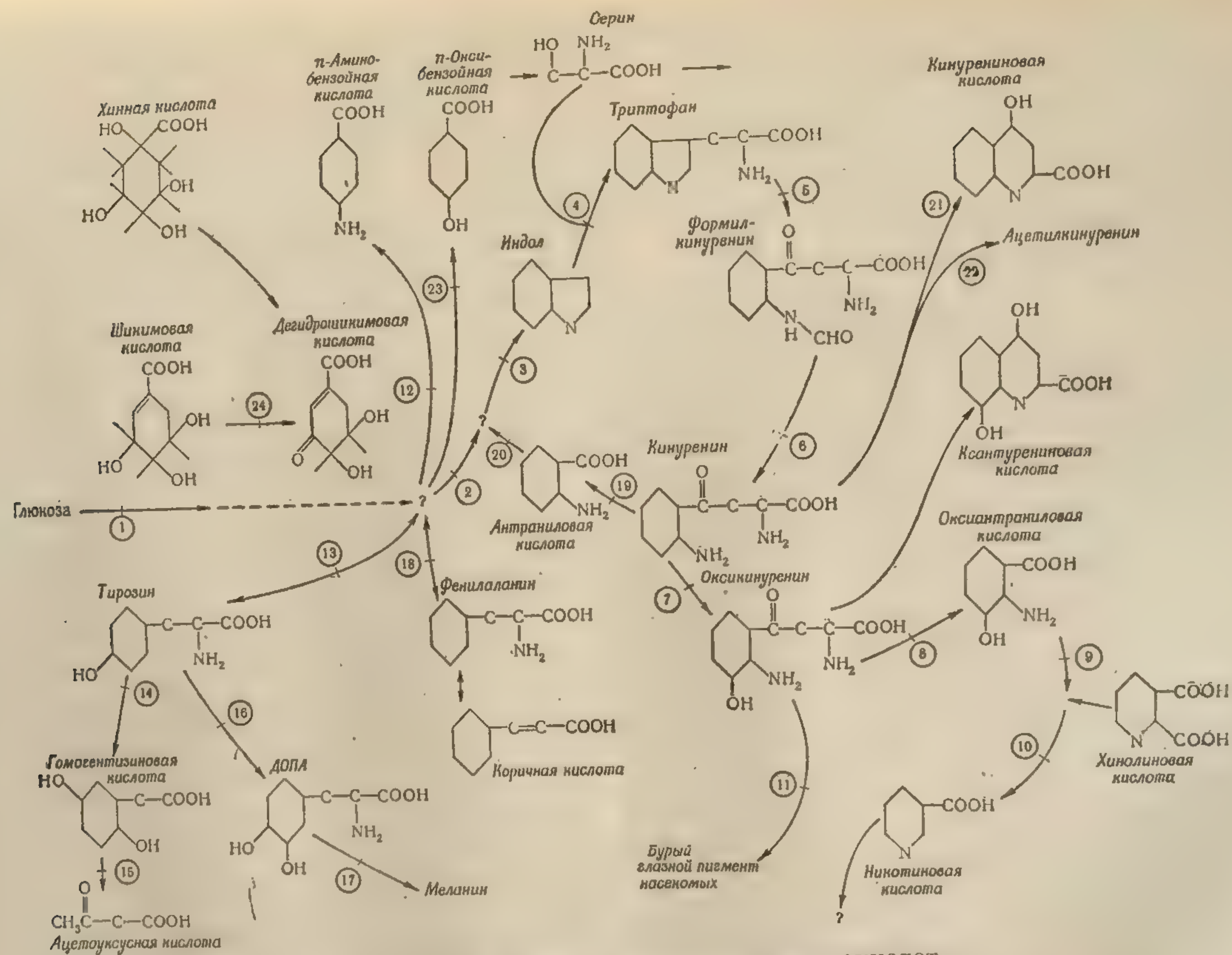
Значительное количество имеющихся в настоящее время данных, полученных в основном при исследовании мутантов, нуждающихся в определенных питательных веществах у микроорганизмов, дают представление о путях биосинтеза аминокислот, гетероциклических компонентов нуклеиновых кислот, витаминов, жирных кислот и некоторых других метаболитов. В этом списке полностью отсутствуют даже простые углеводы, так же как полисахариды, белки, нуклеиновые кислоты и более сложные липиды.

АМИНОКИСЛОТЫ

Ароматические аминокислоты и родственные им соединения

Исследования мутаций, связанных с биологическим синтезом и расщеплением ароматических аминокислот — фенилаланина, тирозина и триптофана — сделали возможным описание обширных и сложных путей обмена веществ (фиг. 53). Был изучен ряд организмов, в том числе позвоночные, насекомые, высшие растения, грибы и бактерии. Полная картина путей обмена веществ, представленная





Ф и г. 53. Биосинтез ароматических аминокислот.

Звенья цепей реакций, нарушаемые в изученных случаях генетическими факторами, отмечены заключенными в кружки цифрами около поперечных черточек (объяснение см. в тексте).

на фиг. 53, не характерна для какого-либо определенного организма; некоторые части этой картины обнаружены у всех исследованных организмов, в полном же виде она не установлена ни у кого. Для удобства описания различные ступени этих путей отмечены при помощи чисел, заключенных в кружки (от 1 до 24). На самом деле эти ступени могут представлять собой единичные реакции или состоять из нескольких стадий химических превращений, детали которых неизвестны.

Наиболее полными являются данные, полученные на *Neurospora* [125, 294, 116]; у этого гриба обнаружены все ступени, за исключением 11, 14, 15, 23 и 24. Эти ступени также, возможно, существуют у *Neurospora*, однако прямые данные, устанавливающие их наличие, отсутствуют. Общий путь превращения триптофана в витамин ниацин (5—10) впервые обнаружен в исследованиях, проведенных с мутантами *Neurospora*, и с тех пор он найден у целого ряда организмов, в том числе у человека, при помощи меченых атомов. Специфический механизм первоначального образования кольца не известен ни для *Neurospora*, ни для какого-либо другого организма. Можно предполагать только, что этот процесс происходит исключительно у растений и микроорганизмов, и кажется довольно вероятным, что кольцо образуется впервые из сахара, возможно, из гептозы. Хинная и шикимовая кислоты представляют собой обычные составные части некоторых тканей высших растений, а исследования мутантных штаммов *Escherichia coli* [132, 133, 684] вскрыли некоторые специфические детали путей обмена веществ на ступенях 1—4, 12, 13, 18, 23 и 24. У насекомых ступени 5—7 и 11 приводят к образованию бурых глазных пигментов, обнаруженных у *Drosophila*, *Bombyx* и *Ephestia* [26, 327]. Представляется сомнительным наличие у *Drosophila* ферментных систем, способных осуществлять реакции 8—10 [747] или 4 через 16; ступени 17 и 19 были обнаружены у *Drosophila*. В исследованиях мутантов высших животных получены данные относительно ступени 13 через 18 [26]. Однако неясно, совершенно ли сходны пути обмена веществ у высших животных и у некоторых других организмов. Как было отмечено выше, существуют прекрасные доказательства наличия у высших животных ступеней 5—10. Ступень 19, по-видимому, наблюдается в некоторых тканях, однако ступень 4 у животных, очевидно, всегда отсутствует. Все пути обмена веществ, представленные на фиг. 53, осуществляются, вероятно, у высших растений, однако получено очень незначительное количество непосредственных данных по этому вопросу. Был обнаружен мутант кукурузы, накапливающий анраниловую кислоту [644], а ступени 5—10 были изучены при помощи биохимических методов у гороха [733].

Было показано, что многие соединения, представленные на фиг. 53, накапливаются в результате генетического блокирования. Некоторые из них, кроме того, поддерживают рост других мутантов, не образующих этих соединений, или же действуют в качестве про-

межутечных р...
мент у насекомых
моя и деградир...
анраниловая к...
у насекомых. Д...
количестве, явля...
хинолиновая к...
стимулирующим
жучочным веществ...
ранее, это относи...
шеству.

Мутанты, пос...
обмена веществ,
таких, как част...
ствия в определе...
ностей в питател...
которые могут б...
Многие из них с...
книги.

Исследования
E. coli дали мате...
мировано на фи...
которую можн...
находит свое до...
питающих, одна...
реакций, описан...
следнем случае...
зуют витамин из...
обратная цепь...
в наличии в пи...
однако они не с...
ганической сер...
так и метиони...
ряда.

Механизм в...
та, указани...
безусловно, ис...
цистеина. Но...
также использ...
влено, восстано...
или в комбина...
Было обнару...
фиг. 54, спосо...
серией реакци...
1 накапливает...
цистатинин.

межуточных веществ иными путями, например давая глазной пигмент у насекомых (см. стр. 220). К этим веществам относятся шикимовая и дегидрошикимовая кислоты у *E. coli*, антраниловая и оксиантраниловая кислоты у *Neurospora* и кинуренин и окскинуренин у насекомых. Другими веществами, образуемыми в ненормальном количестве, являются кинурениновая кислота, ацетилкинуренин и хинолиновая кислота. Последнее вещество обладает некоторым стимулирующим рост действием и может быть или не быть промежуточным веществом в ряду реакций, однако, как уже указывалось ранее, это относится и к любому другому накапливающемуся веществу.

Мутанты, послужившие материалом для изучения этих путей обмена веществ, обладают рядом индивидуальных особенностей, таких, как частичное блокирование реакций, особые взаимодействия в определенных комбинациях генов и усложнения потребностей в питательных веществах, вызванные действием ингибиторов, которые могут быть обнаружены почти в любой группе мутантов. Многие из них служат в качестве примеров в других частях этой книги.

Серные аминокислоты и треонин

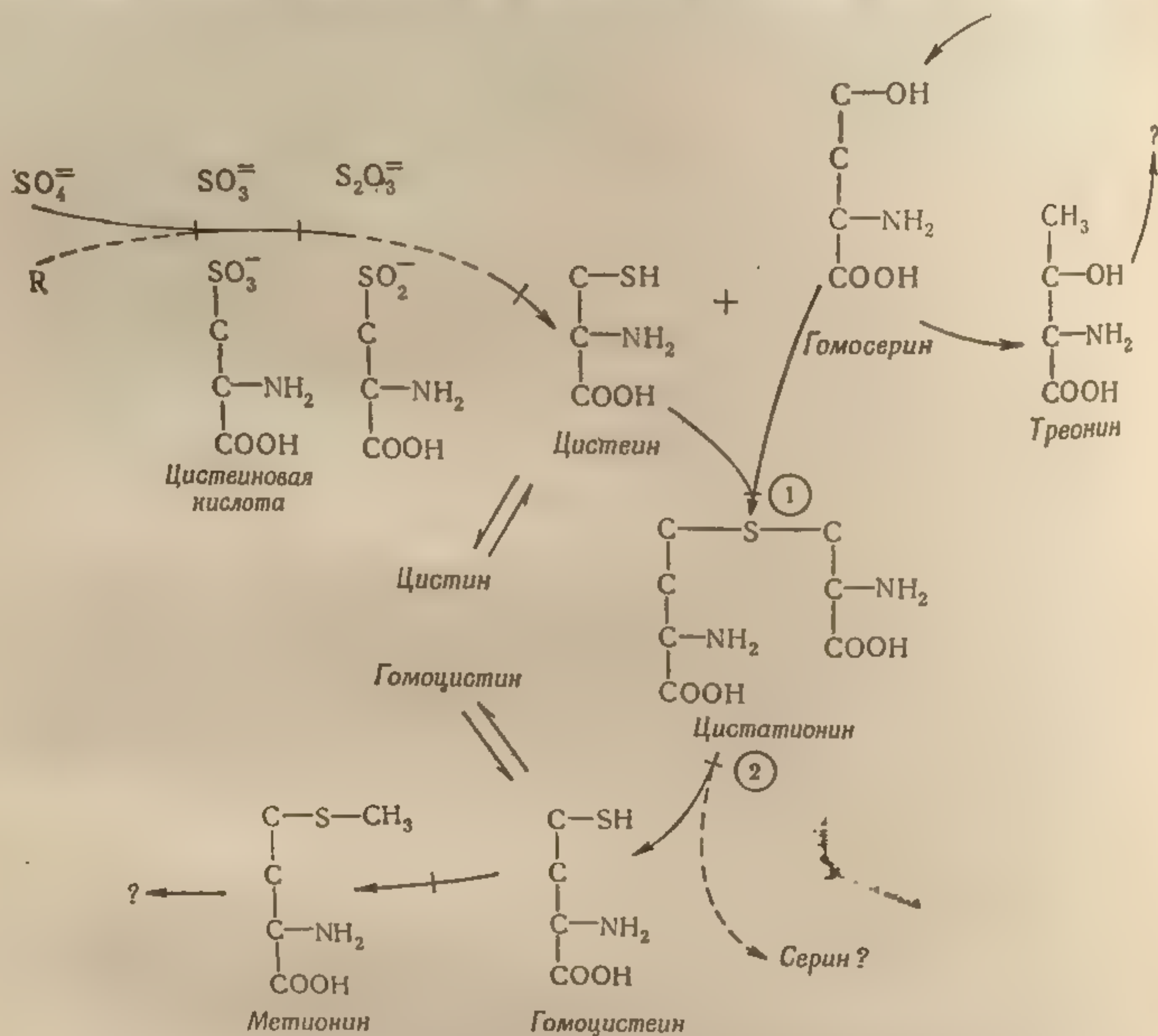
Исследования мутантов *Neurospora*, *Ophiostoma*, *B. subtilis* и *E. coli* дали материал относительно путей обмена веществ, что суммировано на фиг. 54 [164, 289]. И в этом случае серия реакций, которую можно описать, используя мутанты микроорганизмов, находит свое дополнение в данных, полученных на тканях млекопитающих, однако при этом наблюдается важное отличие от цепи реакций, описанных для превращения триптофана в ниацин. В последнем случае как млекопитающие, так и микроорганизмы образуют витамин из триптофана, однако у них не может осуществляться обратная цепь реакций. В настоящем случае животные нуждаются в наличии в пище метионина и могут образовать из него цистеин, однако они не способны образовать метионин из цистеина или неорганической серы. Микроорганизмы могут образовать как цистеин, так и метионин, исходя из любого серного соединения этого ряда.

Механизм восстановления сульфатов не вполне ясен. Три мутанта, указанные на фиг. 54 между SO_4^- и цистеином, способны, безусловно, использовать другие вещества этого ряда, начиная с цистеина. Но мутант, способный использовать сульфит, может также использовать цистеиновую кислоту, однако не было установлено, восстанавливается ли сульфат как неорганическое вещество или в комбинации с углеродной цепью.

Было обнаружено, что мутанты 1 и 2 *Neurospora*, указанные на фиг. 54, способны накапливать вещества, либо связанные с данной серией реакций, либо непосредственно включенные в нее. Линия 1 накапливает гомосерин и треонин, тогда как линия 2 накапливает цистатионин.

Гистидин

Исследования, в которых были получены данные относительно путей биосинтеза гистидина, иллюстрируют целый ряд положений, которые рассматривались во введении и общей дискуссии к этой

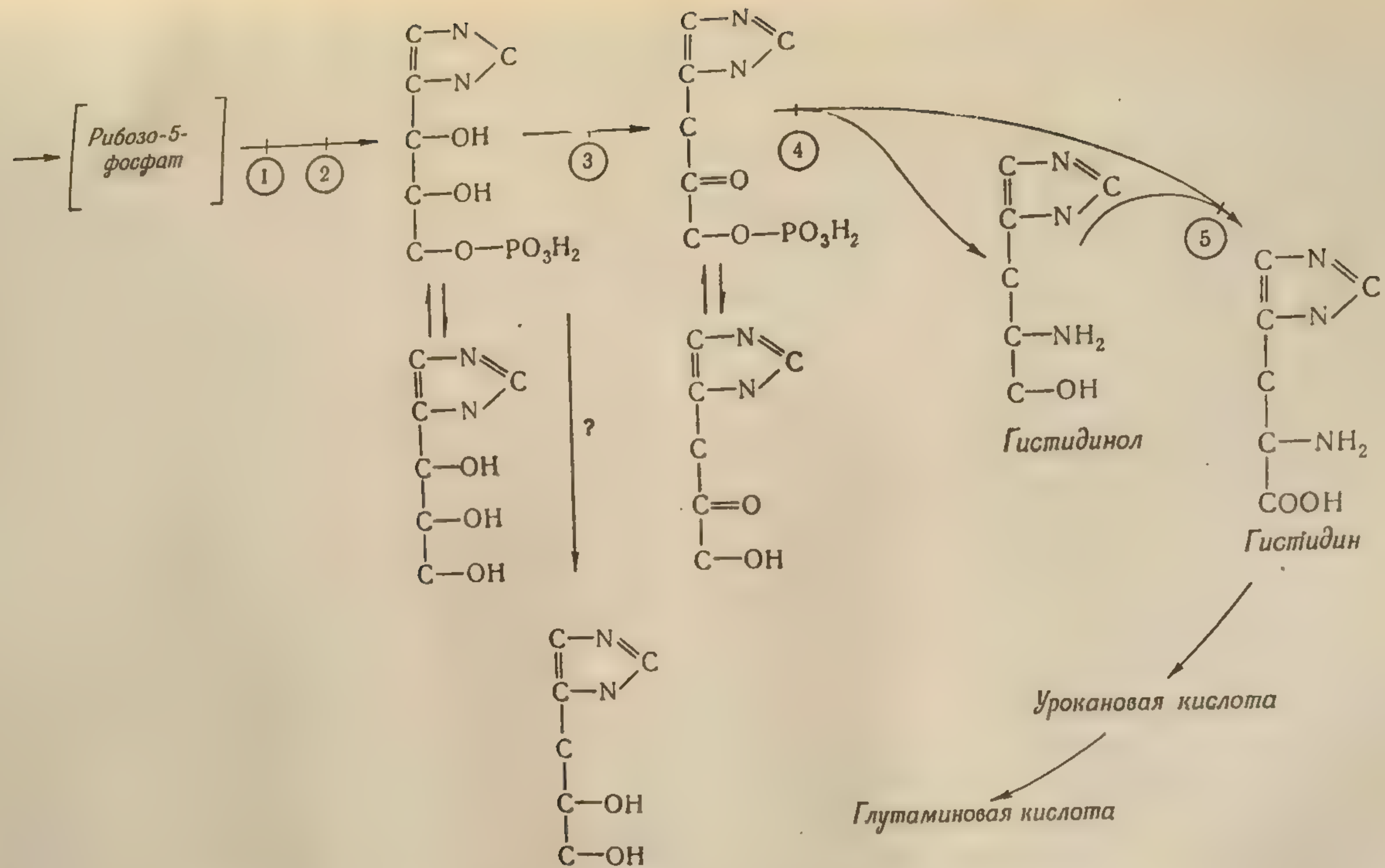


Фиг. 54. Биосинтез серных аминокислот и треонина.

Поперечные черточки показывают положение известных мест генетического блокирования реакций.

главе. Ряд использовавшихся мутантов накапливает различные соединения, близкие по структуре к гистидину, некоторые из них накапливают неродственные соединения — пировиноградную и α-кетонизовалериановую кислоты. Кроме того, на всех мутантах *Neurospora*, нуждающихся в гистидине, обнаруживается сильное и сложное подавляющее действие некоторых комбинаций аминокислот, не включающих в свой состав гистидина. Пути обмена веществ в том виде, как они установлены до настоящего времени, суммированы на фиг. 55.

Во-первых, было обнаружено [664], что один мутантный штамм *E. coli* способен накапливать измеримые количества аминокислоты —



Фиг. 55. Биосинтез и разрушение гистидина.

Числа в кружках обозначают различные типы мутантов, известных у *Neurospora* или *Escherichia coli*.

гистидинола. Было показано также, что другой штамм бактерий способен достаточно успешно использовать это вещество вместо гистидина. В других исследованиях, проведенных с мутантами *Neurospora*, отмеченными на фиг. 55 цифрами 1—5, получены более полные данные [8]. Было обнаружено, что мутанты, относящиеся к ступеням 1 и 2, не образуют производных имидазола; соответствующие ступени 3 образуют триоксипропилимидазол и его фосфорный эфир (см. фиг. 55); отмеченные числом 4 накапливают все пять производных имидазола, предшествующих ступени 4, а мутанты, соответствующие ступени 5, образуют только гистидинол.

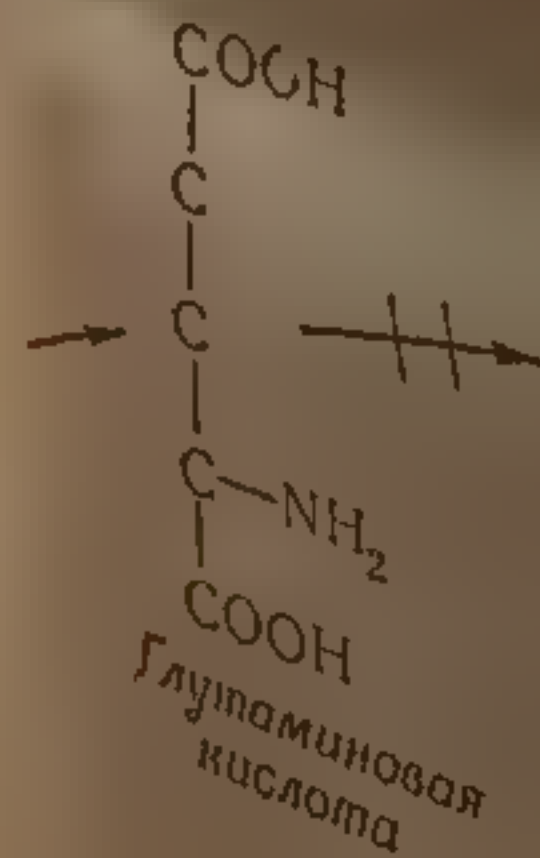
Все указанные соединения были выделены и идентифицированы, однако ни одно из этих чистых веществ не было способно поддерживать рост каких-либо мутантов *Neurospora*, нуждающихся в гистидине. Тем не менее существуют веские основания, чтобы составить из этих соединений ряд, указанный на фиг. 55. Было показано, что все возможные комбинации двойных мутантов способны к накоплению только тех производных имидазола, которые характерны для одной из двух скомбинированных мутаций. Так, например, двойные мутанты штаммов, соответствующих ступеням 1 или 2, с мутантными штаммами, соответствующими ступеням 3, 4 или 5, не дают производных имидазола. На этом основании предполагается, что реакции 1 и 2 происходят первыми в серии реакций, поскольку они блокируют образование гистидина и всех других производных имидазола. Другие комбинации генов в двойных мутантах дают результаты, совместимые с порядком соединений и ступеней реакций, указанным на фиг. 55. Эта схема вполне совместима также с естественным порядком реакций, который может быть составлен, исходя из химических представлений.

Было высказано предположение, что фосфорные эфиры являются действительными промежуточными веществами в серии реакций и что они не могут быть использованы для роста вследствие непроницаемости для этих эфиров клеточных мембран грибов. Это предположение совместимо с другими известными фактами. Нефосфорилированные производные, по-видимому, не используются вследствие отсутствия в грибах настоящих фосфорилирующих ферментов, однако кажется вероятным, что *E. coli* обладает системой, способной фосфорилировать по крайней мере гистидинол.

Гистидиновые мутанты *Neurospora* были классифицированы таким образом вследствие того, что все они нуждаются для роста в гистидине. Однако для этих мутаций в равной мере характерна наследственная особенность, состоящая в том, что все эти линии подавляются определенными комбинациями других аминокислот. Так, например, потребность в гистидине во много раз возрастает, если мутанты культивируются на среде, содержащей аргинин и тирозин. Другие основные аминокислоты, как лизин или орнитин, оказывают такое же действие, как аргинин, а тирозин может быть заменен рядом других нейтральных аминокислот. Значительное подавление наблюдается только при комбинировании по крайней

мере двух аминокислот, поскольку большое количество гистидина в гистидине мутантов не стали искать специально на среде, содержащей только гистидин. Обычные классы мутантов ясно показывают, что зависимость от экспонента.

Как показывают и, возможно, в пути обмена гистидина, тельного числа животных тканей такого рода. Дор [591] при помощи из первых приме

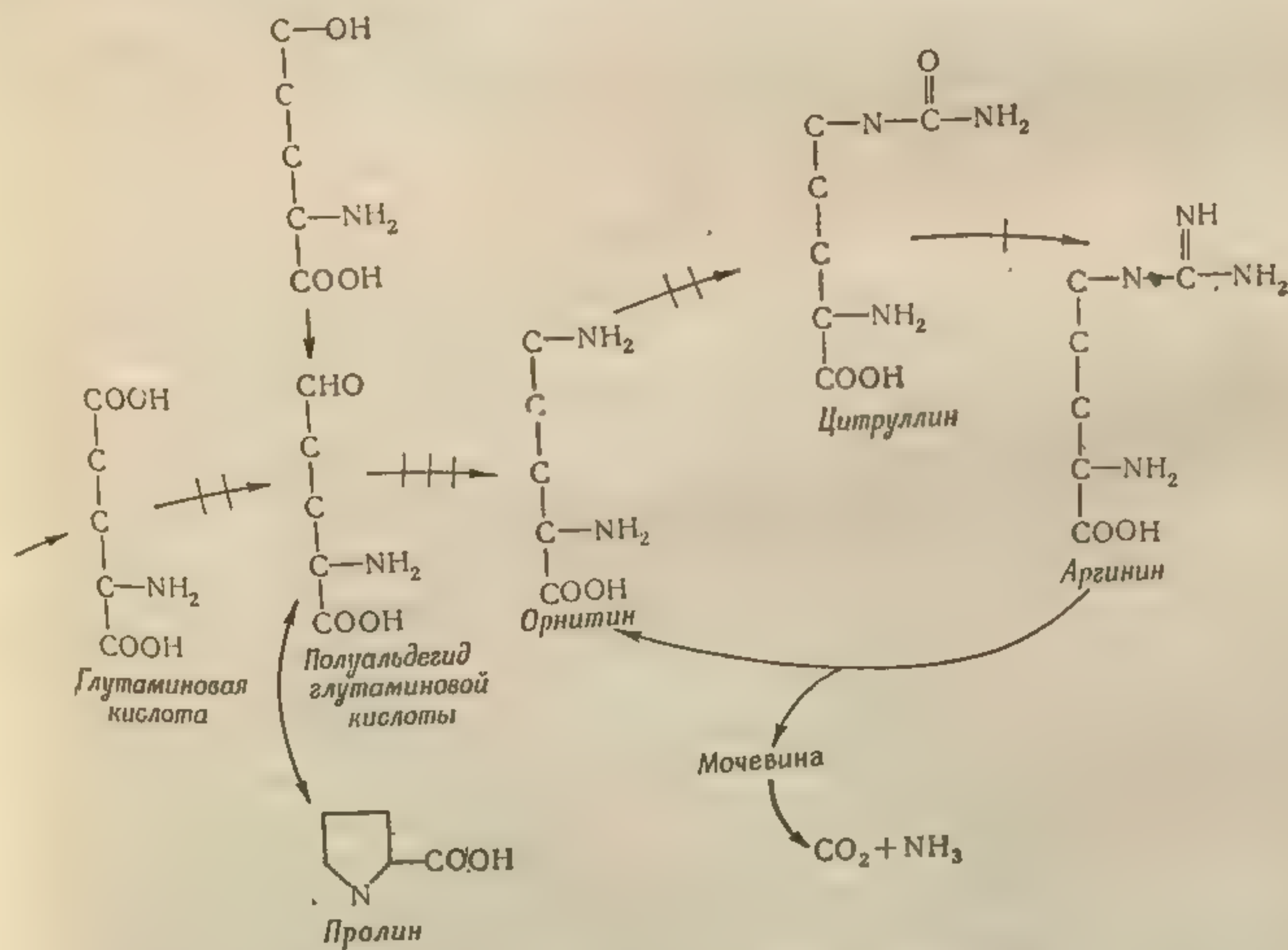


Поперечные черт

мере двух аминокислот, одной основной и одной нейтральной, а поскольку большинство гидролизатов белка содержит недостаточное количество гистидина, чтобы противодействовать подавляющему действию других компонентов смеси, то нуждающихся в гистидине мутантов *Neurospora* не находили до тех пор, пока их не стали искать специально. Когда это было сделано посредством отбора на среде, содержащей в качестве добавочного ростового вещества только гистидин, было обнаружено, что это один из наиболее обычных классов мутантов *Neurospora*. Механизм подавления в этой группе мутантов непонятен, однако имеющиеся результаты очень ясно показывают, в какой степени селекция при получении мутантов зависит от экспериментальных условий, создаваемых исследователем.

Аргинин и пролин

Как показывает фиг. 56, аргинин, пролин, орнитин, цитруллин и, возможно, глутаминовая кислота имеют связанные друг с другом пути обмена веществ, причем эта связь существует у значительного числа организмов. Цикл орнитина был хорошо изучен в животных тканях еще до использования мутантов в исследованиях такого рода. Доказательство существования этого цикла у грибов [591] при помощи изучения мутантов у *Neurospora* послужило одним из первых примеров, показавших ценность использования генети-



Фиг. 56. Биосинтез аргинина и пролина.

Поперечные черточки указывают те вероятные этапы, на которых прерывается синтез в известных случаях генетического блокирования реакций.

ческого блокирования при выяснении путей обмена веществ. Доказательства того, что эта цепь реакций начинается с глутаминовой кислоты, еще не совсем убедительны. Если это так, то можно предполагать, что образование орнитина из глутаминовой кислоты совершенно аналогично образованию лизина из α -аминоадипиновой кислоты. Возможно, что это является основой сложных метаболических взаимоотношений, существующих между лизином и аргинином, которые часто наблюдались у микроорганизмов. Вполне возможно даже, что в обеих цепях реакций действует один и тот же фермент.

Существование цикла орнитина показано у *Lactobacillus* при помощи исследования ряда природных штаммов или спонтанных мутантов этого организма [665]. У гриба *Aspergillus* найден мутант, способный использовать для роста пролин, орнитин или аргинин, но не цитруллин [490]. Данный факт указывает на то, что у этого организма цитруллин не является промежуточным веществом в цепи реакций. Вполне возможно, однако, что это явление представляет собой результат взаимодействия генов, подобного тому, которое обнаружено у *Neurospora* (см. стр. 216). Было показано, что у этого организма видимое положение генетического блокирования в данной цепи реакций, так же как количество необходимых веществ, может быть в сильной степени изменено в результате введения других мутантных генов.

У *Neurospora* рост всех нуждающихся в аргинине мутантов подавляется лизином, однако условия, в которых проводились опыты, не давали возможности при отборе мутантов полностью элиминировать данную группу мутаций, как это наблюдалось в случае мутантов, нуждающихся в гистидине.

Лизин

Мутантов, обнаруживающих потребность в лизине, находят довольно часто у ряда организмов. Были получены данные относительно путей биосинтеза этой аминокислоты. Однако в противоположность некоторым другим описанным выше путям обмена веществ в данном случае имеются достаточные основания полагать, что у разных организмов лизин может быть синтезирован различными путями. В связи с рассмотрением пути обмена веществ, связанного с биосинтезом ароматических аминокислот (стр. 202), отмечалось, что весь этот путь в целом не был обнаружен ни у одного организма, но что отдельные его части являются общими для разных организмов. Как показывает фиг. 57, этого не наблюдается в случае биосинтеза лизина у *Neurospora* и *E. coli*, причем оба вида обладают способностью синтезировать данную аминокислоту из сахара и неорганического азота. Мутанты *Neurospora*, обнаруживающие потребность в лизине, не могут использовать диаминопимелиновую кислоту, а соответствующие мутанты у *E. coli* в свою очередь не используют предшественников, находимых у *Neurospora*. Диаминопимелиновая кислота накапливается одним из мутантов

E. coli и использу
накапливающего
декарбоксилиру
эксперименты, в
новую кислоту, п
ствительно превра

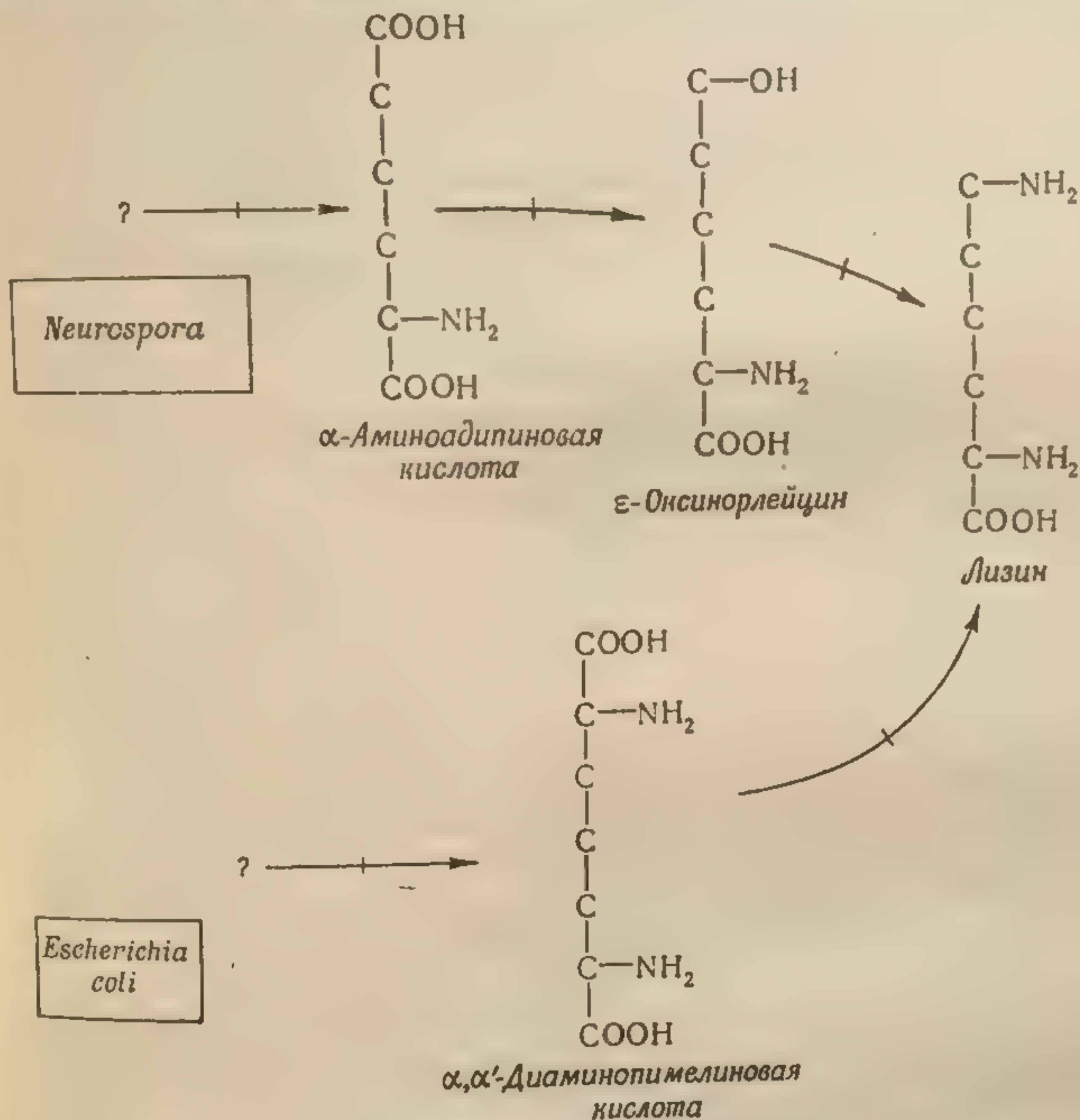
Neurospora

Escherichia coli

Фиг. 57.

аминный азот св
Опыты с мечены
ляется у гриба
новую кислоту,
[61]. У *Ophiostom*
же образом, ка
Все мутанты
ствии аргинина
веществах осло
как у мутантов

E. coli и используется другим. Кроме того, показано, что у мутанта, накапливающего это соединение, отсутствует ферментная система, декарбоксилирующая его с образованием лизина. С другой стороны, эксперименты, в которых применяли меченную C^{14} α -аминоадипиновую кислоту, показали, что у *Neurospora* данное вещество действительно превращается в лизин [422], хотя в течение этого процесса



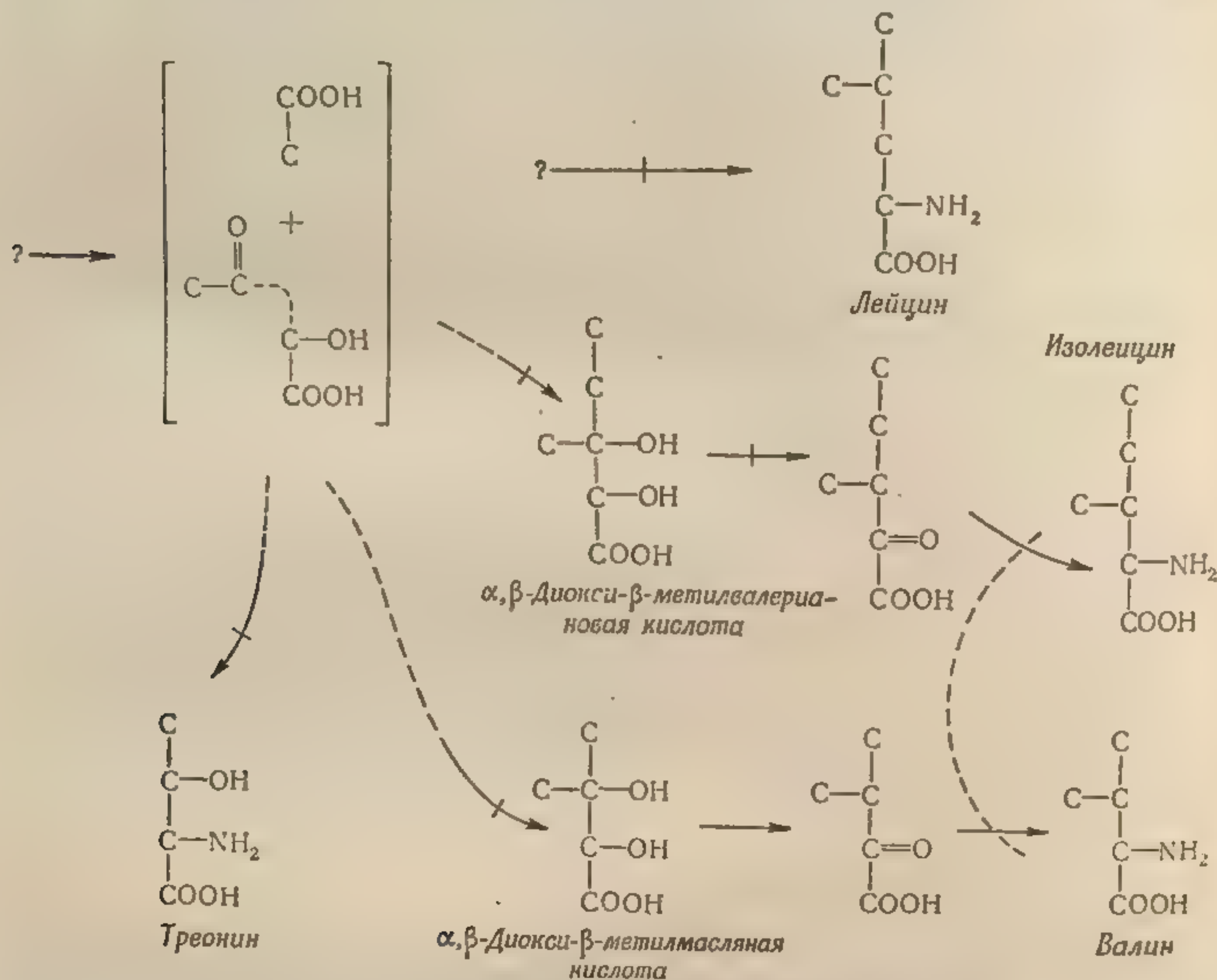
Ф и г. 57. Биосинтез лизина у *Neurospora* и *Escherichia coli*.
Указаны два различных пути биосинтеза.

аминный азот свободно обменивается с общим запасом азота [213]. Опыты с мечеными атомами показали также, что лизин не расщепляется у гриба при помощи обратного пути через α -аминоадипиновую кислоту, как это было установлено для животных тканей [61]. У *Ophioctoma* биосинтез лизина, по-видимому, происходит таким же образом, как у *Neurospora*.

Все мутанты, нуждающиеся в лизине, подавляются в присутствии аргинина, а у некоторых из них потребности в питательных веществах осложнены в результате взаимодействия генов, так же как у мутантов, нуждающихся в аргинине (см. стр. 268—269).

Лейцин, изолейцин и валин

У ряда микроорганизмов найдены мутанты, нуждающиеся в одной или более из трех аминокислот — лейцине, изолейцине или валине. У одной из изученных в самом начале работы с *Neurospora* линий была обнаружена потребность в смеси изолейцина и валина, однако



Фиг. 58. Биосинтез лейцина, изолейцина и валина.

Показано, что одна мутация может блокировать сходные реакции в двух рядах, что указано поперечными черточками, которые следуют за кетокислотами, соответствующими изолейцину и валину.

наблюдалась дальнейшая стимуляция роста лейцином. Эти исследования показали, что для оптимального роста необходимо определенное соотношение данных аминокислот [51, 56]. Было высказано предположение, что в этой линии наблюдается блокирование синтеза изолейцина и происходит накопление α -кето- β -метилвалериановой кислоты, которая в свою очередь подавляет синтез валина, создавая вторичную потребность в валине. Подавление данного мутанта происходит в присутствии кетокислоты, так же как в присутствии изолейцина, однако накопления кетокислоты у мутанта не наблюдалось. Вместо этого было обнаружено образование α,β -диокси- β -метилвалериановой и α,β -диокси- β -метилмасляной кислот. Существуют убедительные данные в пользу того, что эти соединения являются предшественниками изолейцина и валина соответственно

с. Митосфера и у Е. ...
боты с мечеными ато ...
лейцин, а возможно, ...
родной оксикетон ...
цель треонина. Эти ...
на этой фигуре (поп ...
дающими изолейцин ...
тах объясняется отс ...
качестве субстрата об ...
дна мутация приво ...
предполагать, что не ...
в результате взаимо ...
при наличии множе

В исследованиях ...
тательных веществ ...
штаммы, нуждающи ...
аминокислот или см ...
которых случаях из ...
таты, однако не всег ...
установления путей ...
ром, по-видимому, на ...
spora, способным ис ...
эффективными оказа ...
аланин и орнитин. ...
без добавления рост ...
кость осуществлять ...
из этой линии не уда ...
разы глутаминовой ...
ности по отношению ...
ствуют в данной ре ...
Другой тип мут ...
использовать для р ...
вую, аспарагиновую ...
таровую и уксусную ...
ная, изолимонная и ...
тантами этого типа ...
растут без добавлен ...
руется фруктозой ...
Другая сложная ...
и других микроорг ...
зом с переносом о ...
бывают несколько ...
зывают отдельные ...
смесь соединений ...
муравьиная ку

у *Neurospora* и у *E. coli* [1, 2, 659]. В дальнейшем на основании работы с мечеными атомами было высказано предположение, что изолейцин, а возможно, и валин образуются из ацетата и четырехуглеродной оксикетокислоты, которая образует также и углеродную цепь треонина. Эти гипотезы суммированы на фиг. 58. Как показано на этой фигуре (поперечными черточками между цепями реакций, дающими изолейцин и валин), потребность в этих двух аминокислотах объясняется отсутствием трансаминазы, которая использует в качестве субстрата обе указанные кетокислоты [52]. Таким образом, одна мутация приводит к двойному блокированию. Это позволяет предполагать, что некоторые из сложных случаев подавления роста в результате взаимодействия обусловлены, вероятно, подавлением при наличии множественных субстратов (стр. 130).

Разные аминокислоты

В исследованиях мутантов, нуждающихся в определенных питательных веществах, у ряда микроорганизмов были обнаружены штаммы, нуждающиеся в некоторых других аминокислотах, смесях аминокислот или смесях аминокислот с другими веществами. В некоторых случаях изучение этих штаммов дало интересные результаты, однако не всегда ясно, как применить полученные данные для установления путей обмена веществ. Один сложный случай, в котором, по-видимому, найдена общая причина, связан с мутантом *Neurospora*, способным использовать одну из 13 аминокислот. Наиболее эффективными оказались глутаминовая и аспарагиновая кислоты, аланин и орнитин. У этой линии, начинающей со временем расти без добавления ростового вещества, очевидно, ограничена способность осуществлять трансаминирование. В ферментных препаратах из этой линии не удалось обнаружить измеримого количества дегидразы глутаминовой кислоты [178], однако степень этой недостаточности по отношению к другим ферментам, которые, возможно, участвуют в данной реакции, неизвестна.

Другой тип мутанта, обычного для *Neurospora* [374], способен использовать для роста любую из следующих кислот: глутаминовую, аспарагиновую, янтарную, фумаровую, яблочную, α -кетоглutarовую и уксусную. Пировиноградная, щавелевоуксусная, лимонная, изолимонная и *цис*-аконитовая кислоты не используются мутантами этого типа. Мутанты данной группы также со временем растут без добавления кислот, причем этот слабый рост стимулируется фруктозой и подавляется глюкозой.

Другая сложная группа мутантов, обнаруженных у *Neurospora* и других микроорганизмов, связана, по-видимому, каким-то образом с переносом одноуглеродных единиц. Эти мутанты, которые бывают нескольких генетических типов [151, 260], способны использовать отдельные компоненты или нуждаются в определенных смесях соединений из следующего списка: серин, глицин, муравьиная кислота, формальдегид, гистидин, метионин, аденин

и *p*-аминобензойная кислота. В описываемом случае общим для этих мутаций является то, что данные вещества служат донорами фрагментов, содержащих один углерод, или участвуют в обмене веществ этих фрагментов. Данные о природе соответствующих путей обмена веществ отсутствуют.

Были получены мутанты *Glomerella*, обнаруживающие потребность в трипептиде-глутатионе и не способные использовать смесь свободных аминокислот [404]. Оба мутантных штамма хорошо растут на смеси глутамилцистеина и цистеинилглицина, что указывает на блокирование у этих мутантов образования дипептидов.

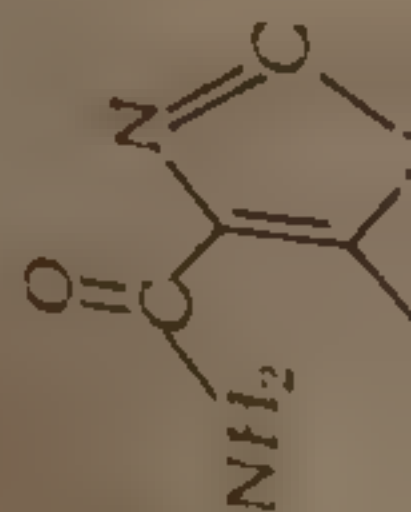
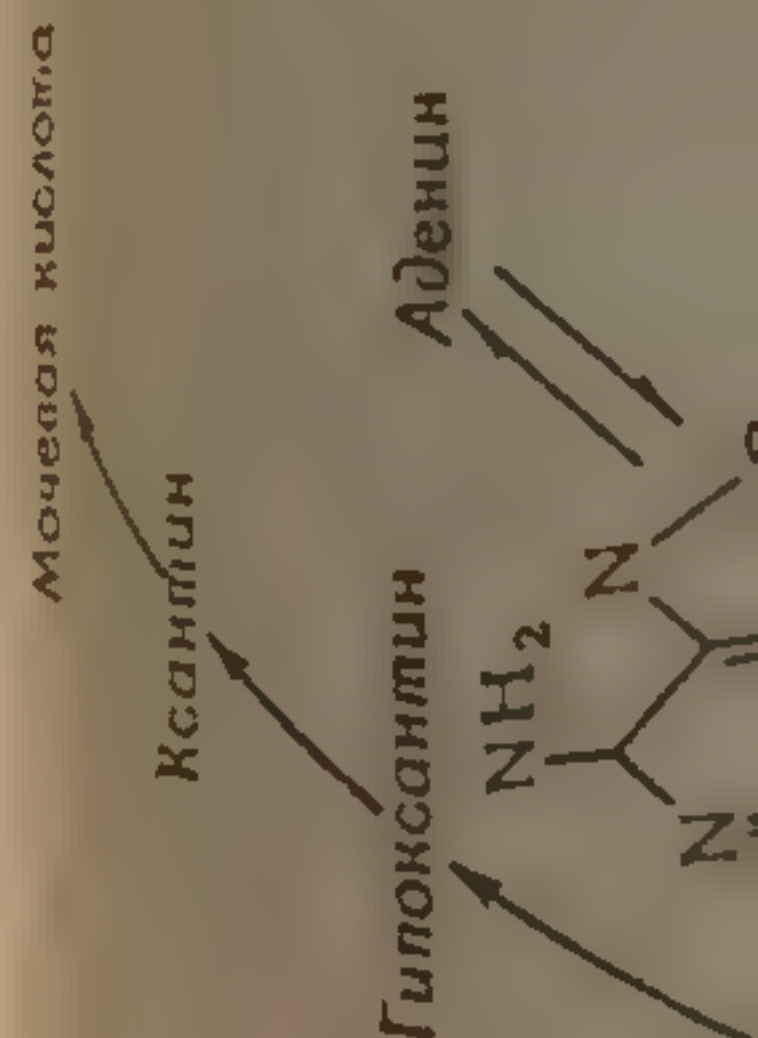
Еще один класс мутантов, который, пожалуй, следует рассмотреть вместе с аминокислотами, связан с восстановлением нитратов. У *Neurospora* известны мутанты, способные использовать нитриты или аммоний, и другие мутанты, использующие аммоний, но не использующие ни нитраты, ни нитриты [34, 298]. Существует возможность, что восстановление нитратов может привести к образованию аминокислот и других органических аминосоединений без стадии образования аммония, однако такой путь обмена веществ не установлен.

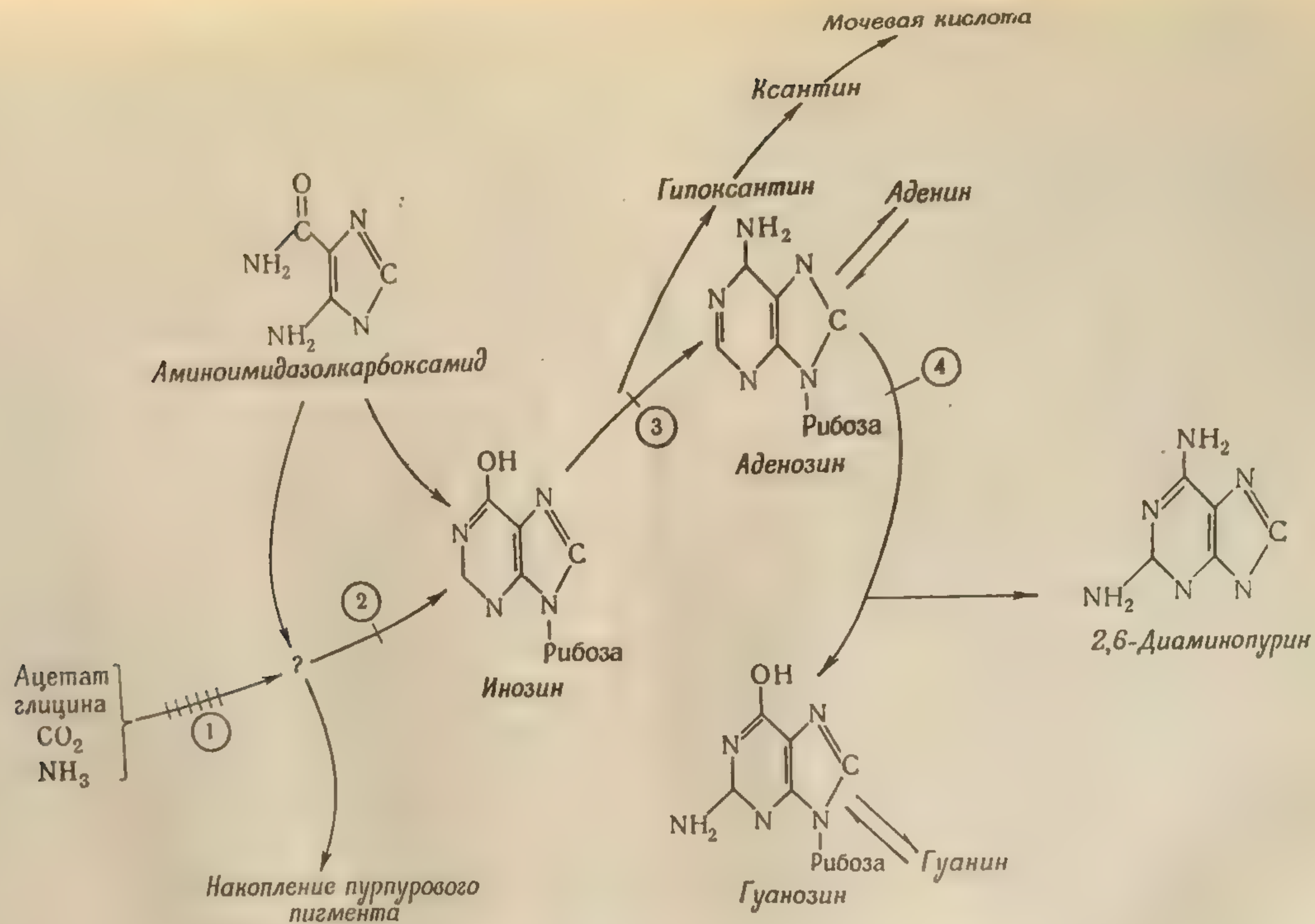
НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Пурины нуклеиновых кислот

В исследованиях, проведенных на *Ophiostoma*, *Neurospora*, *E. coli* и *Saccharomyces*, получено много данных, имеющих отношение к биосинтезу пуриновых оснований нуклеиновых кислот. Результаты этих исследований суммированы на фиг. 59. Как показано на этой фигуре, представляется вероятным, что биосинтез происходит на уровне нуклеозидов или даже более сложных соединений, таких, как нуклеотиды или полинуклеотиды. Этот вопрос еще не выяснен. У *Neurospora* обнаруживается активность дезаминазы аденозина, но не дезаминазы аденина. С другой стороны, некоторые организмы обладают способностью дезаминировать свободные основания. Ступени 1—4, по-видимому, наблюдаются у многих организмов, однако ступень 4 известна только у *Ophiostoma*, у которой известны мутанты, накапливающие аденин и способные использовать для роста диаминопурины, гуанин или гуанозин. Аденин и гипоксантин подавляют рост.

У *Neurospora*, как показывают на фиг. 59 поперечные черточки, известно 8 генетических типов мутантов [420]. Мутант *Neurospora*, соответствующий ступени 2, накапливает около 15% своего сухого веса в виде пурпурово-коричневого пигмента, выделяющегося в клеточные вакуоли. Это вещество представляет собой смесь полимеров нестойкого, растворимого в воде соединения, которое, возможно, является промежуточным веществом в биосинтезе. По структуре оно близко к карбоксамиду аминоимидазола, образующегося у *E. coli* [560] и используемого для роста некоторыми мутантами *E. coli* [43] и *Ophiostoma* [189]. Накопление пигмента у *Neurospora*





Ф и г. 59. Биосинтез пуринов нуклейновых кислот.

Места генетического блокирования указаны поперечными черточками и числами в кружках (объяснение см. в тексте).

используется для определения порядка мутантов, как это уже описывалось для ряда мутантов, нуждающихся в гистидине (стр. 208). Как показано на фиг. 59, все мутантные гены после ступени 7 препятствуют образованию пигмента при комбинировании их с генами, вызывающими накопление пигмента.

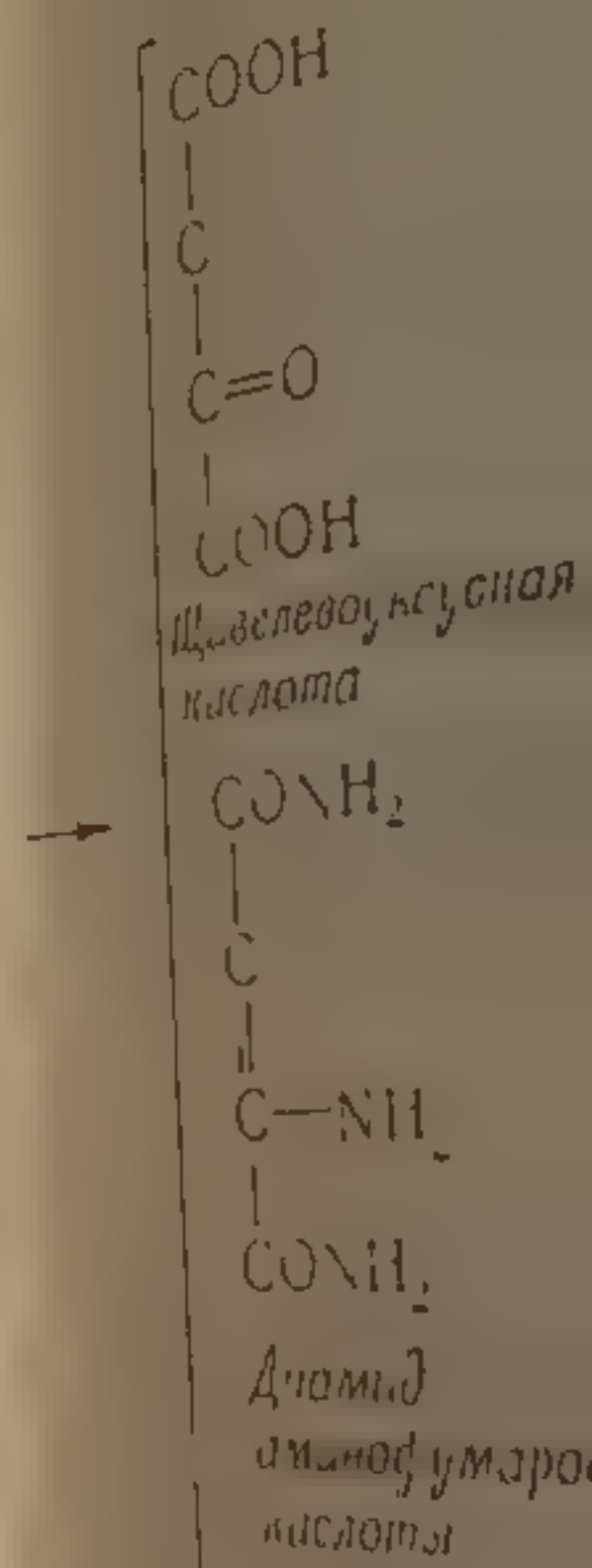
Пигмент или некоторые его предшественники оказывают слабое подавляющее действие на рост, а культуры пурпурового мутанта становились белыми, хотя и обнаруживали потребность в аденине, в результате отбора двойного мутанта, у которого вторая спонтанная мутация препятствует образованию пигмента. Это явление подобно описанному у нуждающихся в гуанине мутантов *Ophiostoma*, у которых производят отбор на двойные мутации, нуждающиеся в гуанине и гипоксантине, по реакции подавления накопления аденина, наблюдающейся у одиночных мутантов, нуждающихся в гуанине [187]. Уже отмечалось, что отбор вторичных спонтанных мутаций в таком направлении составляет естественную основу физиологической эволюции.

Пиримидины нуклеиновых кислот

Как показано на фиг. 60, у *Neurospora* найдено несколько различных генетических типов мутантов, нуждающихся в пиримидине. Все мутанты с одинаковой легкостью используют уридин или цитидин. Урацил адаптивно используется всеми мутантами, если гриб растет на среде, содержащей NH_3 , однако пиримидин используется так же эффективно и быстро, как нуклеозиды, на среде, содержащей NO_3^- в качестве единственного источника азота [417]. Точно так же мутант 3 (см. фиг. 60) может эффективно использовать оротовую кислоту только в среде, содержащей нитраты, тогда как мутант 1 способен использовать этот пиримидин на любой среде. Естественный рибозид оротовой кислоты (оротидин [412]) используется только адаптивно и в незначительной степени мутантами 1 и 3 и совсем не используется мутантами 2 и 4. Обе последние линии накапливают во время периода роста большое количество оротовой кислоты и меньшее количество оротидина. Возможно, что ни одно из этих соединений не является промежуточным веществом для биосинтеза уридина и цитидина, однако они могут иметь какое-то другое биологическое значение, поскольку было показано, что оротовая кислота необходима для роста *Lactobacillus bulgaricus* [706]. Потребность в этом питательном веществе не может быть замещена пиримидиновыми основаниями или нуклеозидами, которые, как известно, входят в состав нуклеиновых кислот. Несмотря на решающее биохимическое значение оротовой кислоты или оротидина, очевидно, что эти вещества представляют собой продукты биосинтеза уридина и цитидина, поскольку двойные мутанты линий 1 или 3 с 2 или 4 не накапливают карбоксилированных пиримидинов [421].

Образование оротовой кислоты мутантами *Neurospora* согласуется с прежними наблюдениями, что два нуждающихся в пиримидине мутанта с ча-

мидине мутанта с ча-
мидин в присутствии
флавоиновой кислоты
ства могут служить
жащейся в оротово
тельные доказательства

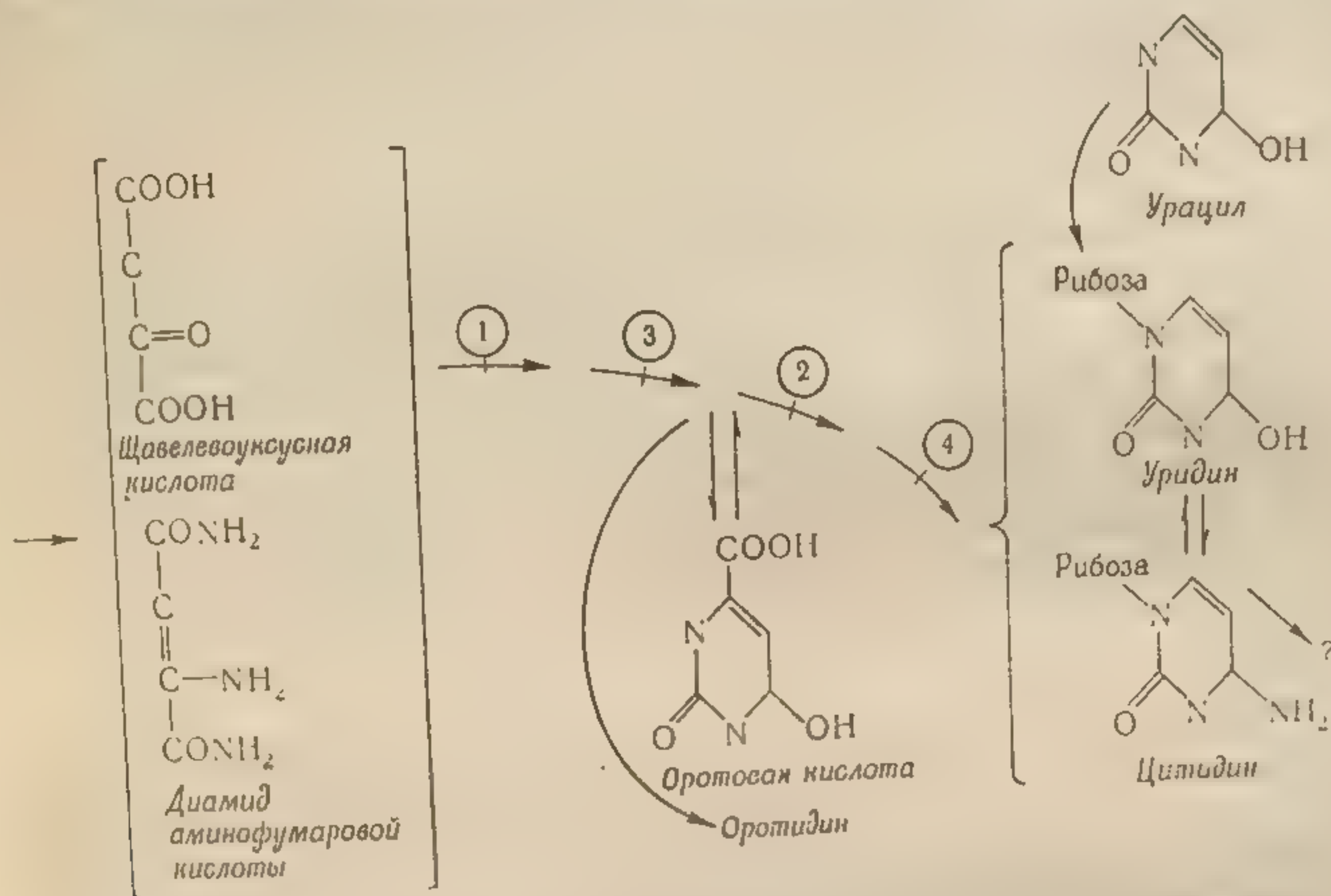


Фиг. 60. Би-
При помощи исслед-
кислота и оротидин-
ментом показала, что
уридина и цитидина

Ни один из у-
бен использовать

Описано дв-
ных кислотах
ряд насыщенных
стеариновой, я-
второй тип ис-
леновую кислоту
путей образова-
лот, однако из-
шей картины

мидине мутанта с частичным генетическим блокированием способны расти в присутствии щавелевоуксусной кислоты и диамида аминифумаровой кислоты [421]. Представляется очевидным, что эти вещества могут служить источником четырехуглеродной цепи, содержащейся в оротовой кислоте в виде прямой цепи, однако окончательные доказательства этого отсутствуют.



Фиг. 60. Биосинтез некоторых пиримидинов нуклеиновых кислот. При помощи исследования мутантов не было установлено, являются ли оротовая кислота и оротидин истинными промежуточными веществами, однако работа с ферментом показала, что оротовая кислота переходит в фосфат оротидина, а затем в фосфат уридина и цитидина вместо свободных нуклеозидов, как это показано на фигуре.

Ни один из упоминавшихся выше мутантов *Neurospora* не способен использовать тимин, тимидин или 5-метилцитозин.

ЛИПИДЫ И ПИГМЕНТЫ

Жирные кислоты

Описано два типа мутантов *Neurospora*, нуждающихся в жирных кислотах [360]. Первый тип, который использует ацетат и ряд насыщенных жирных кислот, за исключением пальмитиновой и стеариновой, является общим для грибов и других организмов. Второй тип использует только олеиновую, линоленовую и линоловую кислоты. Эти результаты указывают на независимость путей образования насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, однако известно слишком мало деталей для установления общей картины обмена веществ.

Каротиноиды

Основой для изучения биосинтеза каротиноидов служат мутанты помидора и *Neurospora*. Точная картина биосинтеза еще не может быть представлена, однако кажется вероятным, что бесцветные и более гидроксированные полиены служат предшественниками менее насыщенных окрашенных полиенов [266]. Ряд сложных случаев взаимодействия генов влияет на биосинтез и процессы изомеризации (стр. 93).

Порфирины

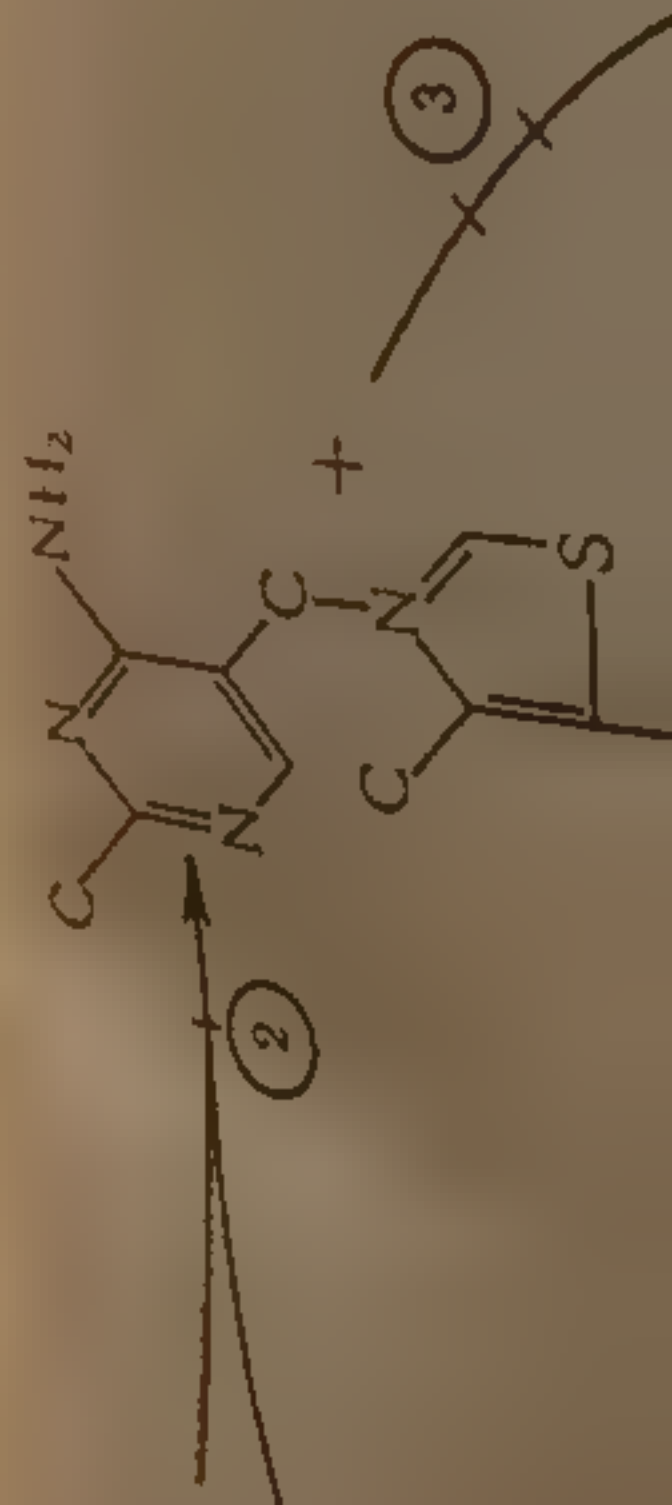
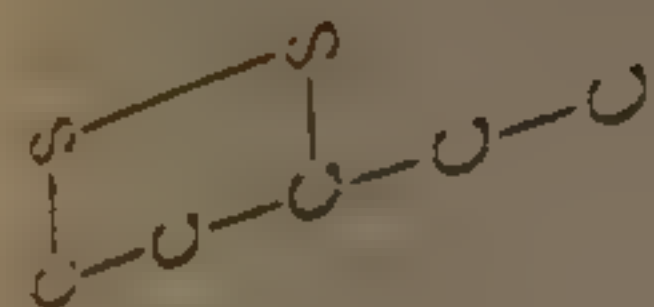
Для изучения путей биосинтеза хлорофилла были использованы мутанты *Chlorella* [222]. Была установлена следующая общая последовательность реакций: \rightarrow протопорфирин \rightarrow Mg-протопорфирин \rightarrow Mg-винилпротопорфирин \rightarrow эфир Mg-винилпротопорфиринфитила \rightarrow хлорофилл *a*. Следует ожидать наличия еще большего числа отдельных ступеней, и имеются серьезные основания полагать, что биосинтез железопорфиринов в цитохромах, других ферментах и в гемоглобине идет по одному и тому же пути до стадии протопорфирина.

ВИТАМИНЫ ГРУППЫ В

Мутантов, обнаруживающих потребности в витаминах группы В, обычно находят у всех микроорганизмов, которые используют для отбора мутантов. Пути обмена веществ, связанные с образованием *n*-аминобензойной, *n*-оксибензойной и никотиновой кислот, известны лучше других и рассматривались выше в связи с метаболизмом ароматических аминокислот (стр. 202). Как для этих витаминов, так и для большинства других витаминов группы В, за исключением липотиамина, исследование мутантов дало мало данных о комплексовании витаминов с образованием функциональных коферментов. Представляется вероятным, что большинство коферментов слишком велико или обладает слишком большим зарядом, чтобы проходить через клеточные мембраны организмов, использовавшихся для отбора мутантов.

Очень мало данных имеется о путях биосинтеза биотина, инозита, пантотеновой кислоты, пиридоксина или рибофлавина. Дестиобиотин ведет себя как предшественник биотина у *Penicillium* или *Neurospora* [634]. *Neurospora* способна также использовать биоцитин (биотиниллизин), однако значение этого наблюдения еще не известно. Как уже обсуждалось выше (стр. 180), пантотеновая кислота образуется у *Neurospora* из пантотеновой кислоты и β -аланина.

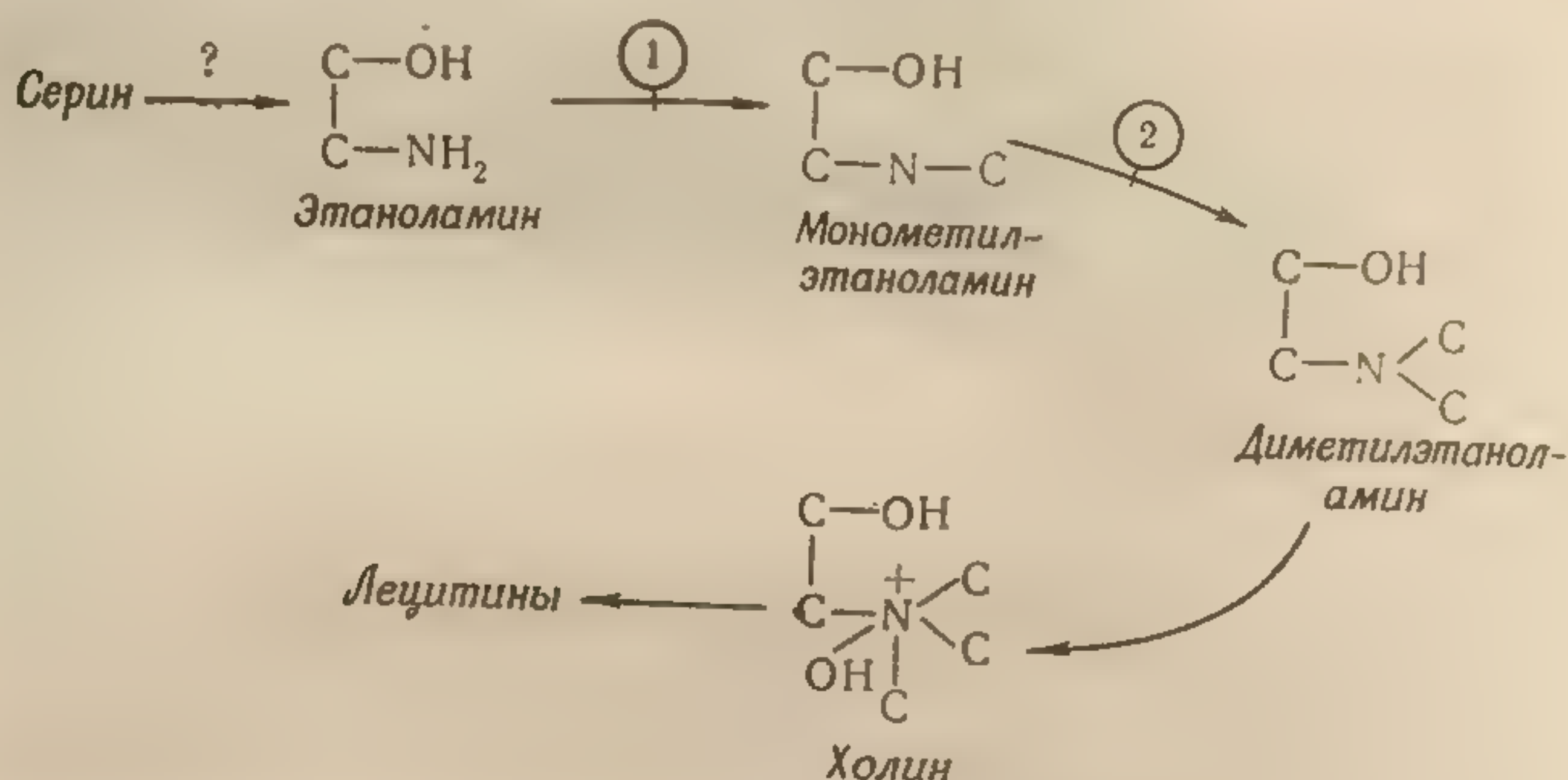
При изучении мутантов *Neurospora* и *Escherichia coli* получены ценные данные относительно биосинтеза тиамина [635] и липотиамина [507]. Общая картина путей обмена веществ представлена на фиг. 61. Ступени 1—3 представлены на основе изучения мутантов *Neurospora*. Было показано, что мутант, соответствующий ступени 2, накапливает пириимидин и компоненты тиазола. Один из мутантов



Пиримидин
Тиазол



ступени 3 накапливает вещество, которое может быть использовано мутантами ступени 2, однако это вещество не было выделено и, возможно, представляет собой тиаминпирофосфат, поскольку мутанты *Neurospora* способны утилизировать данное соединение вместо тиамина. Мутанты ступени 3 обладают ненормально большой потребностью в тиамине и могут использовать тиазол вместе с пиримидином. На этом основании было сделано предположение, что у данных мутантов наблюдается частичное блокирование с потребностью в комплексах тиамина. То, что это пирофосфат липотиамида, как показано на фиг. 61, не было установлено для *Neurospora*.



Фиг. 62. Биосинтез холина.

У *Neurospora* установлено несколько ступеней биосинтеза холина (фиг. 62) [297]. Как показано при помощи выделения, монометилэтанол-амин накапливается мутантами на ступени 2. Этот мутант может использовать накопленное соединение, так же как диметильное производное и холин. Отсюда следует, что накопление происходит только в результате изменения относительных скоростей реакции ступеней 1 и 2. Эти нуждающиеся в холине мутанты способны использовать ацетилхолин, арсенохолин, фосфорилхолин, диметилэтилоксиэтиламмонийхлорид, триэтилхолин и метионин. Можно предполагать, что использование метионина обязано медленному действию на метильные группы, если принять наличие у мутантов, нуждающихся в холине, частичной способности к синтезу холина. У *Neurospora* были выделены лецитины, однако другие комплексные соединения неизвестны. Следует отметить, что мутанты *Neurospora* составляют основу одного из наиболее известных методов испытания на холин.

ГЛАЗНОЙ ПИГМЕНТ НАСЕКОМЫХ

Бурый пигмент, находящийся в омматидиях сложных глаз многих, если не всех, насекомых, представляет собой комплекс, состоящий из белка и собственно пигмента, отлагаемый в форме гранул в

различных частях
тафтированных химич
принимались [216]
е биосинтезе пигм
Эфрусс и другими
которых они были
слого пигмента.
общей проблеме
использования ген

Бурь

Наследование б
пожалуй, с наибол
вестно большее чи
этого вещества, че
этому детальное
результаты относя
других насекомых
стр. 203).

Триптофан

Формилкинуренин

Кинуренин

Оксикинуренин

Бурые пигменты

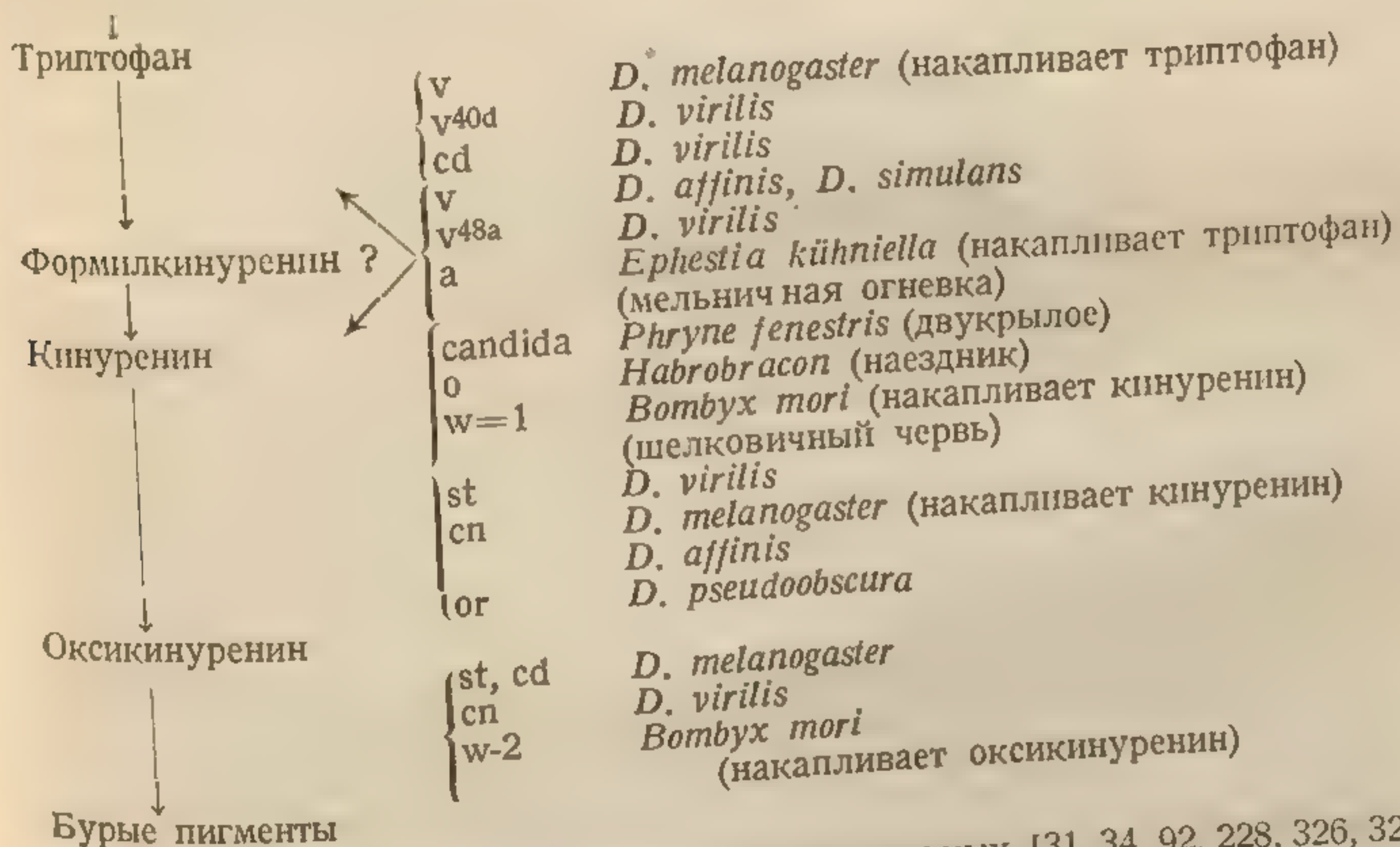
Фиг. 63. Образ
Каждая из ступеней

Сложные гл
жат два типа п
связан непосред
вестно, только

различных частях отдельных омматидий. Сам пигмент еще не идентифицирован химически, хотя соответствующие попытки и предпринимались [216]. Однако некоторые из промежуточных веществ в биосинтезе пигмента были определены, а разработанные Бидлом, Эфрусси и другими [26, 30, 31, 41, 92, 168, 327] методы, при помощи которых они были открыты и выявлена их связь с образованием бурого пигмента, явились началом и создали основу подхода к общей проблеме выяснения путей обмена веществ при помощи использования генетических методов.

[Бурый пигмент у *Drosophila melanogaster*

Наследование бурого пигмента изучено у многих насекомых, но пожалуй, с наибольшим успехом у *D. melanogaster*, у которой известно большее число мутантных генов, влияющих на биосинтез этого вещества, чем в какой-либо другой группе насекомых. Поэтому детальное обсуждение ограничено *D. melanogaster*, однако результаты относящихся к этому вопросу работ, проведенных на других насекомых, суммированы на фиг. 63 (см. также фиг. 53, стр. 203).



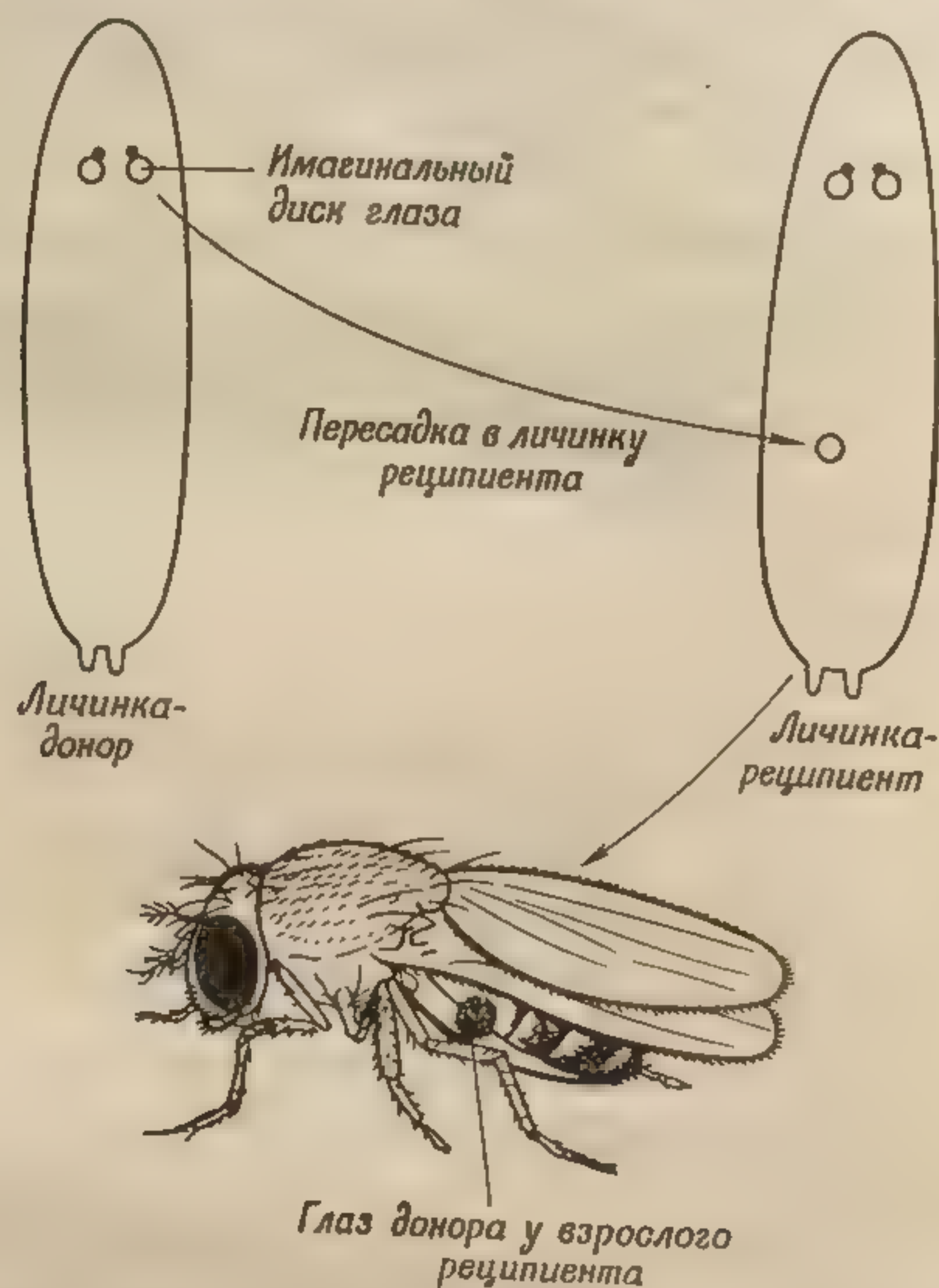
Фиг. 63. Образование бурого пигмента у насекомых [31, 34, 92, 228, 326, 327, 365, 495, 629, 663].

Каждая из ступеней ряда реакций прерывается генными мутациями у значительного числа различных насекомых.

Сложные глаза видов рода *Drosophila* в действительности содержат два типа пигментов — бурый и красный. Красный пигмент не связан непосредственно с бурым и встречается, насколько это известно, только в сем. *Drosophilidae*. Рассматриваемые ниже мутант-

ные гены оказывают лишь незначительное влияние на красный компонент глазного пигмента или же не действует на него совсем, поэтому мы его здесь касаться не будем; он рассматривается в связи с бурым пигментом в гл. X.

У *D. melanogaster* известно 4 рецессивных неаллеломорфных гена, эффективно блокирующих образование бурого пигмента:



Фиг. 64. Метод пересадки имажинальных дисков от мухи одного генотипа в тело мухи другого генотипа.

Глаз донора обычно извлекается из тела хозяина, после чего исследуется его фенотип.

vermilion (*v*), cinnabar (*cn*), scarlet (*st*) и cardinal (*cd*). Фенотипы мух, гомозиготных по любому из этих генов, почти одинаковы. Однако то, что эти фенотипы обусловлены разными причинами, установлено при помощи различных методов: 1) трансплантации частей между особями различного генотипа; 2) кормления личинок предшественниками пигмента и 3) непосредственного химического анализа. Успешное приложение этих методов к таким высокоорганизованным формам животных, как насекомые, иллюстрирует положение, что анализ путей обмена веществ при помощи мутантных организмов не обязательно ограничен микроорганизмами. Эксперименты с трансплантацией производят, удаляя те части личинки, которые непосредственно участвуют в образовании взрослого организма в течение стадии куколки, т. е. так называемые имажинальные диски

или зачатки взрослой ткани, и пересаживая их в гемоцель другой личинки, которая служит хозяином (фиг. 64). Среда хозяина на стадии личинки и куколки позволяет ткани донора развиваться до почти взрослого состояния. Таким образом, если часть личиночного имагинального диска, известная как зачаток глаза, перенесена в течение окукливания в личинку хозяина, то глазной зачаток дифференцируется и образует глаз, содержащий пигмент в брюшке развившегося взрослого насекомого-хозяина. Однако глаз не является

Таблица 28
Образование пигмента в пересаженных глазах
дрозофилы

Генотип донора	Генотип хозяина	Образование пигмента в пересаженном глазе донора
+/+	+/+	+
v/v	+/+	+
cn/cn	+/+	+
+/+	v/v или cn/cn	+
v/v	cn/cn	+
cn/cn	v/v	—
cn/cn	cn/cn	—
v/v	v/v	—
cn/cn или v/v	st/st или cd/cd	+
st/st или cd/cd	+/+ или v/v или cn/cn	—

вывернутым и имеет совершенно нормальный вид. Поэтому его можно вскрыть и определить количество образовавшегося пигмента. В табл. 28 приведены результаты опытов по трансплантации между донорами и хозяевами указанных генотипов с точки зрения образования бурого пигмента. Следует отметить, что в зачатках глаза генотипов v/v и cn/cn развивается бурый пигмент в хозяевах, имеющих генотип +/+, st/st и cd/cd. Это указывает на то, что способные к диффузии промежуточные вещества, не образующиеся в мутантских зачатках глаза, поступают из тканей хозяина. Нормальное развитие пигмента зачатками глаза генотипа v/v в хозяине генотипа cn/cn и отсутствие образования пигмента зачатками глаза генотипа cn/cn в хозяине генотипа v/v указывают на различие в предшественниках бурого пигмента, которых не могут синтезировать эти мутанты. Эти предшественники были выделены, идентифицированы и синтезированы [5, 82, 83, 639]. У мутантов *vermilion D. melanogaster* блокирован синтез кинуренина и формилкинуренина, а у мутантов *cinnabar* кинуренин и формилкинуренин образуются, но не синтезируется окскинуренин [227, 228, 326, 327]. Следующие результаты подтверждают значение этих соединений для образования бурого пигмента. Как кинуренин, так и формилкинуренин при скормливания личинкам генотипа v/v приводят к образованию

бурого пигмента. Сходные результаты можно получить посредством инъекций этих соединений. Однако один кинуренин не может изменить фенотип мух *cn/cn*, которые поэтому, видимо, не способны синтезировать окскинуренин из кинуренина. Наличие блокирования реакций в положениях, указанных на фиг. 63, получает дальнейшее подтверждение в том, что мухи генотипа *cn/cn*, по-видимому, накапливают кинуренин, а мухи генотипа *v/v* — триптофан [227]. Естественно предположить, что триптофан является предшественником, поскольку сходная цепь синтетических процессов от триптофана до кинуренина обнаружена в печени млекопитающих [330, 331].

При помощи экспериментов по трансплантации можно показать (табл. 28), что мухи *st/st* и *cd/cd* образуют окскинуренин, кинуренин и формилкинуренин, но зачатки глаза этих генотипов автономны в своем развитии, и в них не может быть вызвано образование бурого пигмента в хозяевах генотипов $+/+$, *v/v* или *cn/cn*. Можно предполагать, что промежуточные соединения, необходимые для этих мутантов, не способны к диффузии. В настоящее время отсутствуют методы, с помощью которых можно было бы выяснить природу этих промежуточных веществ.

Гомологии с другими видами насекомых

Сходство путей обмена веществ в различных группах организмов твердо установлено биохимиками, так же как и то, что у различных организмов мутации могут вызывать сходные нарушения

этих путей. Однако трудно или даже невозможно установить гомологии этих мутантных генов, за исключением тех таксономических групп, в которых значительное число видов хорошо изучено в генетическом отношении. Одной из немногих таких групп среди насекомых является род *Drosophila*. Как показали Стертевант и Новицкий [629], анализ известных мутантов целого ряда видов этой группы позволяет гомологизировать их хромосомы. Таким образом,

Таблица 29

Гены с гомологичным влиянием на фенотип у пяти различных видов *Drosophila*. Связь с хромосомами указана на основе гомологии с *D. melanogaster*

Вид	X-хромосома	2R
<i>D. melanogaster</i>	v	cn
<i>D. simulans</i>	v	—
<i>D. pseudoobscura</i> ...	v	or
<i>D. affinis</i>	v	cn
<i>D. virilis</i>	v	st

в X-хромосомах большинства исследованных видов обнаружены сходные генные мутации, насколько можно судить по влиянию этих мутаций на фенотип. Эта гомология была установлена и на биохимическом уровне в результате обнаружения того, что по крайней мере 5 видов имеют в X-хромосоме мутантный ген, обозначаемый как *vermilion*, который приводит к тому, что не образуется кину-

ренина. У четырех
ный ген, локализов
правому плечу II
подавление синтеза
D. melanogaster.

На фиг. 63 указ
к которым относятся
генетическое блоки
vermilion или *cinna*
между этими другим
возможно. Представ
до сих пор насекомы
пигмент глаз, с мут
путей обмена веществ

ГЕН

В представленной
ние отдельных участ
Для удобства эти ре
как при реакции $A \rightarrow$
лоска и «ген 1» обоз
ния реакции в той ме
Необходимо, однако
тическое блокирова
основе; принимая
шаяся в гл. V и VI,
ленная на фиг. 65, II
наблюдающееся in v
тическом блокирова
замедлении появле
зано, что данное зам
нения скорости одно
ными полосками на

Картина реакции
сложнее, чем показ
обсуждалось в данно
скорость реакции за
ния концентраций за
ченных на фиг. 65, I
образования в сво
[E₁] и [E_x] включен
-уществования мета
женные реакции по
мать рассмотрения
дались в связи с из
предполагается, что

ренина. У четырех видов из этих пяти (табл. 29) обнаружен мутантный ген, локализованный в хромосомном элементе, гомологичном правому плечу II хромосомы *D. melanogaster*, который вызывает подавление синтеза оксикинуренина, так же как ген *cinnabar* у *D. melanogaster*.

На фиг. 63 указан ряд других видов насекомых (некоторые из которых относятся к другим отрядам, чем род *Drosophila*), имеющих генетическое блокирование, сходное с наблюдаемым у мутаций *vermillion* или *cinnabar* *D. melanogaster* и близких к ней видов. Однако между этими другими видами гомологию хромосом установить невозможно. Представляет интерес тот факт, что у всех исследованных до сих пор насекомых, у которых найдены гены, изменяющие бурый пигмент глаз, с мутантными генами связаны сходные нарушения путей обмена веществ.

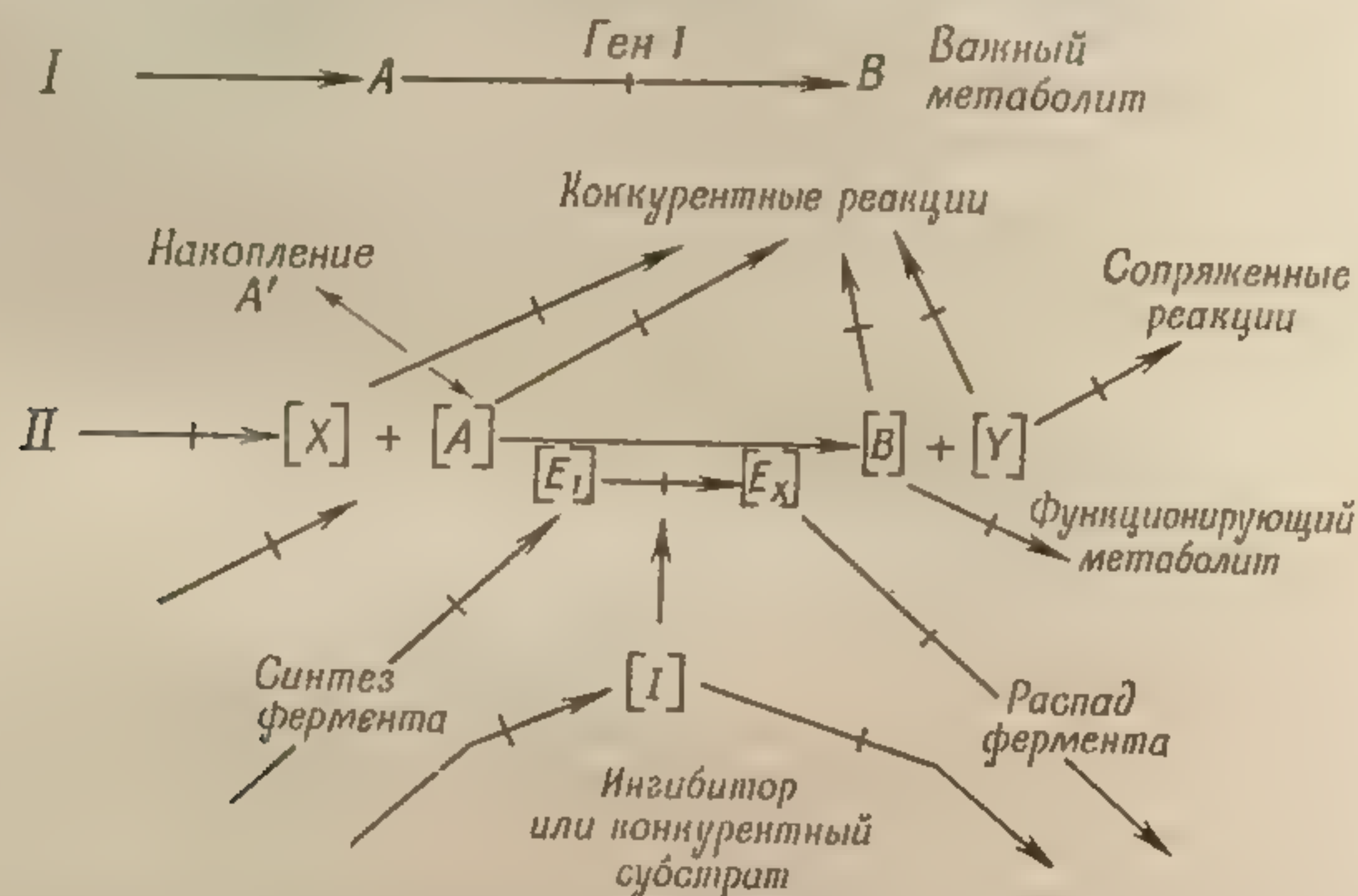
ГЕНЕТИЧЕСКОЕ БЛОКИРОВАНИЕ

В представленной в данной главе картине обмена веществ описание отдельных участвующих в нем реакций очень сильно упрощено. Для удобства эти реакции изображены в виде различных ступеней, как при реакции $A \rightarrow B$, показанной на фиг. 65, I, где поперечная полоска и «ген 1» обозначают вероятное положение места блокирования реакции в той мере, в какой это связано с мутантным фенотипом. Необходимо, однако, разобраться в употреблении термина «генетическое блокирование» на более динамической биохимической основе; принимая во внимание факты и принципы, обсуждавшиеся в гл. V и VI, становится очевидным, что система, представленная на фиг. 65, II, лучше отображает истинное положение вещей, наблюдающееся *in vivo*, чем фиг. 65, I. В данном случае, при генетическом блокировании, которое фенотипически выражается в замедлении появления доступного наблюдению продукта B, показано, что данное замедление может наблюдаться в результате изменения скорости одной из многих реакций, как это указано поперечными полосками на различных стрелках фиг. 65, II.

Картина реакции может быть несколько проще или значительно сложнее, чем показано на фиг. 65, II в виде схемы, как это уже обсуждалось в данной и в предыдущих главах. Однако исследуемая скорость реакции зависит от приблизительно стабильного состояния концентраций реагирующих веществ и их продуктов, обозначенных на фиг. 65, II как $[X]$, $[A]$, $[E_1]$, $[E_x]$, $[I]$, $[B]$ и $[Y]$. Эти концентрации в свою очередь зависят от относительных скоростей образования компонентов и их участия в побочных реакциях. $[E_1]$ и $[E_x]$ включены в схему для того, чтобы показать возможность существования метаболически различных форм фермента, а сопряженные реакции показаны для того, чтобы подчеркнуть необходимость рассмотрения энергетики процесса. Все эти моменты обсуждались в связи с изолированными ферментными системами, причем предполагается, что полученные таким образом данные приложимы

в количественном отношении к реакциям *in vivo*, несмотря на то, что многие из них, безусловно, проходят через ряд последовательных ступеней с активированными промежуточными веществами, остающимися сцепленными с ферментами.

Принципиальное положение, подчеркиваемое здесь, состоит в том, что само генетическое блокирование представляет собой характерную черту пути обмена веществ. Фенотипическое выражение мутации в равной степени зависит от специфики путей обмена



Ф и г. 65. Схематическое изображение генетического блокирования.

I — упрощенное изображение; II — обобщенная картина. Поперечные черточки указывают некоторые возможные положения изменений скоростей реакций, приводящих к изменению скорости реакции $A \rightarrow B$.

веществ, существующих до мутации и после мутации. Поэтому эффект мутации является множественным по своей природе. Один эффект, несомненно имеющий значение для мутантов, обнаруживающих потребность в питательных веществах, возникает в результате того, что питательное вещество должно быть получено клеткой извне. Если даже это вещество поступает с постоянной скоростью, как это должно быть при нормальном биосинтезе, существует возможность усиления побочных реакций, которые могут потенциально возникать в течение процесса поступления вещества из окружающей среды и при его диффузии к истинному месту реакции внутри клетки. Степень участия таких побочных реакций является функцией существующего обмена веществ. Они могут проявиться при помощи образования производных или продуктов расщепления в результате косвенных влияний на накопление соединений, не являющихся непосредственно родственными, или в результате индукции вторичных взаимодействий, приводящих к подавлению или к другим осложнениям потребностей в питательных веществах. Примеры, которые можно отнести к данным категориям, приводились выше.

Второй результат блокирования реакции может состоять в накоплении некоторого вещества, химически достаточно близко род-

ственного вещества. В этой главе начально. В этой главе накопления. Особое вещества в больших количествах. Особое вещества в больших количествах. Особое вещества в больших количествах.

В качестве примера (10 575) *Neurospora* триптофан и при нормальной жидкости мерно 0,1 мг.мл. В этой концентрации источника источника кислорода источника кислорода источника кислорода. Поэтому круговорот точно большой скоростью эффективностью производящиеся в результате как инертные, одна из них к требующимся является вероятным, что то стадии быстро использованы в других веществ вследствие бой просто явление веществ, которые уже ряда веществ, распада части клетки. Мы обнаружено существующей. Эта общая картина для понимания ряда мутаций. Один из примеров, но накоплением веществ биохимическим цепочками оказывают наиболее два примера из исследований в питательных что нормально *Neurospora* поли- или метафосфатных питательных данное вещество

ственного веществу, изменение которого наблюдалось первоначально. В этой главе было описано много примеров такого рода накопления. Особенно важно учитывать, что образование такого вещества в большом количестве представляет собой результат изменения баланса веществ, а не какое-то новое явление и не вещество, образуемое обычно инертным побочным продуктом.

В качестве примера (см. фиг. 53) был приведен случай мутанта (10 575) *Neurospora*, способного использовать для роста индол или триптсфан и при определенных условиях накапливать в культуральной жидкости антраниловую кислоту до концентрации примерно 0,1 мг/мл. В присутствии соответствующего запаса сахара эта концентрация сохраняется в течение многих дней, однако после истощения источника углерода антраниловая кислота в присутствии кислорода исчезает в течение нескольких часов. Добавляемая антраниловая кислота также достаточно быстро окисляется мицелием гриба, который ее больше не образует. Окислительная система может быть адаптивной, однако сохранение постоянной концентрации соединения можно также объяснить предположением о незначительном сродстве вещества с окислительным ферментом. Поэтому круговорот накопленного вещества происходит с достаточно большой скоростью, а концентрация соединения ограничена эффективностью процесса расщепления. Некоторые вещества, образующиеся в результате генетического блокирования, ведут себя как инертные, однако чаще мутанты не образуют соединений, близких к требующимся для роста, в заметных количествах. Представляется вероятным, что в таких случаях предшественники на какой-то стадии быстро превращаются в вещества, которые могут быть использованы в других цепях реакций. Таким образом, накопление веществ вследствие генетического блокирования представляет собой просто явление изменчивости существующих путей обмена веществ, которые уже сами по себе характеризуются накоплением ряда веществ, рассматриваемых нами как нормальные составные части клетки. Мы обращаем внимание на накопление только в тех случаях, когда отклонение в концентрации от нормы может быть обнаружено существующими методами.

Эта общая картина представляет собой естественную основу для понимания ряда других множественных (плейотропных) эффектов мутации. Один из них, который, вероятно, является довольно обычным, но привлекал относительно мало внимания, связан с накоплением веществ, не имеющих очевидного отношения к биосинтетическим цепям реакций, на которые, по-видимому, мутации оказывают наиболее непосредственное влияние. Можно привести два примера из исследований по мутантам с измененными потребностями в питательных веществах у *Neurospora*. Было показано, что нормально *Neurospora* содержит небольшое количество гекса-, поли- или метафосфата и что целый ряд нуждающихся в определенном питательных веществах мутантов этого гриба накапливает данное вещество [303]. Некоторые данные по этому вопросу сумми-

рованы в табл. 30. Накопление этого вещества ясно связано со специфическими генными мутациями, однако не вполне понятно, как и почему образуется данное соединение. Следует отметить, что большой избыток полифосфата образуется мутантом, нуждающимся в триптофане (65001) только в том случае, если он растет в присутствии двух (триптофан и кинуренин) из четырех перечисленных веществ, которые могут быть использованы для роста. Возможно, что в данном случае накопление представляет собой побочный продукт действия цикла триптофана (фиг. 53 [262]), поскольку из четырех испытанных веществ только триптофан и кинуренин участвуют в этом цикле.

Таблица 30

Накопление извлекаемых кислотами полифосфатов мутантами *Neurospora* [303]*
(Цифры даны в миллиграммах на 1 г сырого веса гриба)

Номер мутанта	Добавляемое соединение	Извлекаемый кислотами фосфат, мг/г
4545	Лизин	5,5
37301	Пиримидин	6,8
55701	Летальный температурный мутант	4,9
65001	Индол	15,2
65001	Триптофан	15,0
65001	Кинуренин	13,2
65001	Оксиантраниловая кислота	3,4
65001	Никотинамид	2,6

*16 других линий, в том числе линий дикого типа и различных мутантов, давали количество полифосфата порядка 0,9—1,7 мг/г.

Картина, до некоторой степени сходная с наблюдавшейся при накоплении полифосфата, получена при исследовании образования пировиноградной и α -кетонизовалериановой кислот рядом мутантов *Neurospora* [417]. Соответствующие данные суммированы в табл. 31. В данном случае также нет достаточных сведений для предположения о существовании какой-либо прямой связи между природой накапливающегося вещества и структурами питательных веществ, необходимых для различных исследованных мутантов. Поскольку образование этих кетокислот зависит от присутствия мутантных генов, а не от наличия необходимых для роста соединений, эти примеры накопления можно рассматривать как случаи множественного (плейотропного) действия генных мутаций.

В обоих приведенных примерах получены убедительные доказательства того, что мутанты каждой группы, обнаруживающей накопление, не содержат одной и той же мутации, приводящей к этому явлению. Можно сделать вывод, что каждая группа мутантов с различными потребностями в питательных веществах способна так изменять пути обмена веществ, что это приводит к накоплению од-

ного и того же
механизм этого
ных путей, при
данного метабо-

Динитрофенилгид
пол
(Цифры)

Номер
мутанта

4545
37101
C84
C94
29997
263
37301
36601

*Было обнаруж
в питательных вещес
использованных в оп

Очень вероятно
в результате вы
ростей реакций
под действием
домутационный
примеры данног
щенном путем
щимися в аргин
тических соедин
метно подавляе
метаболизмов),
линий, от котор
лено ли это п
роста соединени
различных мута
таты представл
тропного) дейс
Еще более п
давления в свя
торых других
гриба отбирал
нормальными

ного и того же вещества. Нет необходимости признавать общий механизм этого накопления, поскольку существует много возможных путей, при помощи которых может быть изменена концентрация данного метаболита.

Таблица 31

Динитрофенилгидразоны пировиноградной и α -кетонизовалериановой кислот, полученные от ряда мутантов *Neurospora** [417]

(Цифры даны в граммах на 15 л культуральной среды)

Номер мутанта	Требующееся вещество	Общее количество гидразонов, г	Очищенные гидразоны	
			пировиноградной кислоты	кетонизовалериановой кислоты
4545	Лизин	6,5	0,4	5,2
37101	»	11,0	5,0	5,0
C84	Гистидин	4,5	3,0	1,1
C94	»	12,0	5,0	6,0
29997	Аргинин	6,0	0	4,5
263	Пиримидин	5,5	4,5	0
37301	»	4,5	4,3	0
36601	»	3,0	2,6	0

*Было обнаружено, что линии дикого типа и 15 мутантов с различными потребностями в питательных веществах не накапливают значительных количеств этих кетокислот при использованных в опыте условиях роста.

Очень вероятно, что с процессом изменения состава метаболитов в результате вызванных мутациями изменений относительных скоростей реакций связано явление усложнения мутационных эффектов под действием факторов среды, мало или совсем не влияющих на домутационный путь обмена веществ. Некоторые убедительные примеры данного явления приведены в этой главе в разделе, посвященном путям обмена веществ, связанных с мутантами, нуждающимися в аргинине, гистидине, лизине, изолейцине-валине, ароматических соединениях, рибофлавине и др. В этих случаях рост заметно подавляется веществами или смесями веществ (нормальных метаболитов), не оказывающими существенного влияния на рост линий, от которых произошли данные мутанты. Неизвестно, обусловлено ли это подавление необходимостью внесения нужных для роста соединений из внешней среды или каким-то иным влиянием различных мутаций на пути обмена веществ, тем не менее эти результаты представляют собой четкие примеры множественного (плейотропного) действия мутаций.

Еще более поразительные доказательства значения явления подавления в связи с генетическим блокированием получены в некоторых других исследованиях с *Neurospora* [146, 147]. Мутанты гриба отбирались сознательно скорее на основе подавления их нормальными метаболитами, чем на основе возникновения потреб-

ности в нормальных метаболитах. Было получено несколько таких линий, а две из них были интенсивно изучены. Оба мутанта при росте на минимальной среде имели фенотип дикого типа, однако в присутствии треонина одна из линий обнаруживала сильно ограниченный рост при 35°, в то время как другая линия обнаруживала слабый рост в присутствии гистидина. Подавление гистидином снимается при помощи добавления какой-либо одной из нескольких аминокислот. В целом этот мутант обнаруживает в присутствии гистидина фенотип, очень сходный с одним из описанных в этой главе мутантов (стр. 213). Мутант, обнаруживающий подавление в присутствии треонина, изучен более подробно, причем были установлены следующие факты:

1. При 35° в присутствии треонина мутант нуждается для роста в метионине, гомоцистине, гомосерине или сульфаниламиде. Холин вместе с тиазольным фрагментом тиамин стимулирует рост мутанта. Высокие концентрации холина обнаруживают подавляющее действие в отсутствие треонина, причем это подавление снимается тиаминном.

2. При 30° мутант не подавляется ни треонином, ни холином и обнаруживает при этой температуре фенотип дикого типа.

3. При 25° мутант растет примерно вдвое хуже линии дикого типа. Его рост стимулируется метионином или тиазолом с холином. При этой температуре он лишь в незначительной степени подавляется треонином.

4. При 18—20° мутант не подавляется треонином или холином, однако скорость его роста ограничена и в значительной степени стимулируется тиазолом.

Эти характеристики данного мутанта *Neurospora* свидетельствуют о сильном сдвиге путей обмена веществ, вызываемых изменениями температуры. Характер происходящих изменений точно неизвестен, однако очевидно, что потребности мутанта в питательных веществах зависят одновременно и от действия гена и от среды. Действие определенного гена в процессе образования определенного генетического блокирования может быть совершенно косвенным. Много других примеров, сходных с этими, обсуждается в главах, посвященных влиянию среды и взаимодействию генов.

НЕКОТОРЫЕ ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

Живая клетка представляет собой высокоорганизованную единицу, характеризующую на биохимическом уровне способностью к проведению большого числа химических реакций, идущих непрерывно и таким образом, что состав самой клетки оказывается зависящим от относительных скоростей этих реакций. Гены осуществляют контролирующее влияние на скорости реакций, причем индивидуальный эффект отдельного гена зависит от взаимодействия реакций. Наблюдаемый эффект мутации гена зависит от выбора критерия и методов исследования, доступных наблюдателю. В этой

главе был представлен
протекают в некоторой
большой частью при
браны на основе на-
в питательных веществ
характеристикой. Л
степени в отношении
проявляющихся дру
вание мутантов и ге
веществ является к
можно получить до
взаимоотношений з
тов в процессе обм
показывающая все
гирующие вещества
целью такого типа
ческого понимания
следственности, раз

главе был представлен ряд цепей реакций или их частей, которые протекают в некоторых живых клетках. Эти результаты получены большей частью при исследовании мутантов, которые были отобраны на основе наличия или отсутствия определенных потребностей в питательных веществах, так что это служит их наиболее очевидной характеристикой. Лишь немногие из них испытаны в достаточной степени в отношении сопутствующих изменений обмена веществ, проявляющихся другим путем. Тем не менее подобное использование мутантов и генетических методов для изучения путей обмена веществ является крайне удобным методом, при помощи которого можно получить достаточно данных для создания общей картины взаимоотношений значительного количества клеточных компонентов в процессе обмена веществ. Именно такая широкая картина, показывающая все биохимические реакции, включающая все реагирующие вещества и продукты реакций, должна быть главной целью такого типа работ, поскольку это является основой биохимического понимания взаимодействия генов, цитоплазматической наследственности, развития и, возможно, самого действия гена.

Глава IX

АЛЛЕЛИЗМ, ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АЛЛЕЛЕЙ И ПСЕВДОАЛЛЕЛИЗМ

В гл. I аллельные гены были определены как вызывающие фенотипически различные эффекты, но локализованные — как показывают опыты по скрещиванию — в соответственных точках гомологичных хромосом. Это определение основано на экспериментальных данных и связано своими корнями с представлением о менделевских аллеломорфных факторах или контрастирующих признаках, которые расщепляются во время размножения. С таким определением связано лишь одно допущение — что ген есть единица, неделимая при кроссинговере.

Доказать аллелизм генов можно лишь путем опытов по скрещиванию организмов, размножающихся половым путем. Если организм диплоиден, то для проведения этих опытов необходимо прежде всего вывести путем инбридинга линии, гомозиготные по генам, подозреваемым в аллелизме. После этого скрещивают гомозиготы разного генотипа, а также гибриды F_1 друг с другом. Во втором поколении (F_2) выясняют фенотипические отношения, которые при аллелизме генов не должны существенно отклоняться от 1:2:1 (при неполном доминировании) или 3:1 (если один из генов доминирует полностью). Значительное отклонение от этих отношений показывает, что гены неаллельны и данный признак обусловлен двумя или большим числом неаллеломорфных генов или же связан с какой-либо хромосомной абберацией. У гаплоидных организмов, подобных нейроспоре, в результате скрещивания двух штаммов, несущих разные аллели, ожидается расщепление 1:1.

Многие локусы известны лишь по двум аллелям, один из которых — ген «дикого типа», стандартный, обычно доминантный, другой — рецессивный «мутантный» ген. Однако часто встречаются также *серии множественных аллелей*, которые представляют собой серии, по-видимому, аллельных генов, обуславливающих от 3 до 20 или даже до 80 различных фенотипов (как, например, рассмотренные на стр. 102—103 гены, определяющие некоторые из клеточных антигенов крупного рогатого скота). Множественные аллели могут быть проверены на аллеломорфизм путем скрещиваний лишь по два в каждом опыте. Если окажется, что одна особь содержит одновременно три или более аллеля, то это означает, что некоторые из них неаллельны друг другу.

Аллелизм
ФЕНОТИПИЧ
Одной из пер
между генотипами
и Пёниета [19], п
деляется присутст
сутствия. Когда
случай доминант
нехваток, эта теор
мененной форме о
ния тех случаев,
шенно не оказыва
пример, в случае
что альбинизм, ил
зависит от отсутст
от присутствия ал
показать, что возм

Рецессивные му
(rst^2) [167] и white
татом как видимы
Путем цитологиче
показать, что при
тации которых да
нехватка в X-хро
($w^+ \rightarrow w$) приводят
которые бывают п
ного пигмента. Г
невидимой нехват
«активному» аллел

Вторым органи
зано, что несомн
[389, 597], являет
низмов встречаются

Поскольку сх
стигнуты различн
воначальную теор
возможность инакти
ными в отношении
аморфами [443].
широком смысле,
ливающий отсут
так как у больш
возможно различ
аморфов не явл
состоянии обычн
ляют собой редк
по-видимому, вс
Необходимо
«отсутств

ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ЗАМЕНЫ ОДНОГО АЛЛЕЛЯ

Одной из первых попыток объяснить фенотипические различия между генотипами была «теория присутствия — отсутствия» Бэтсона и Пённета [19], постулировавшая, что доминантный фенотип определяется присутствием гена, а рецессивный есть результат его отсутствия. Когда были открыты серии множественных аллелей и случаи доминантного фенотипического эффекта гетерозиготных нехваток, эта теория оказалась недостаточной. Однако в видоизмененной форме она все еще сохраняет свое значение для объяснения тех случаев, когда гомозиготный рецессивный аллель совершенно не оказывает действия, типичного для доминантного. Например, в случае наследования пигментации можно предположить, что альбинизм, или отсутствие окраски у животного или растения, зависит от отсутствия гена, обуславливающего пигментацию, или от присутствия аллеля, неспособного образовывать пигмент. Можно показать, что возможны оба эти случая.

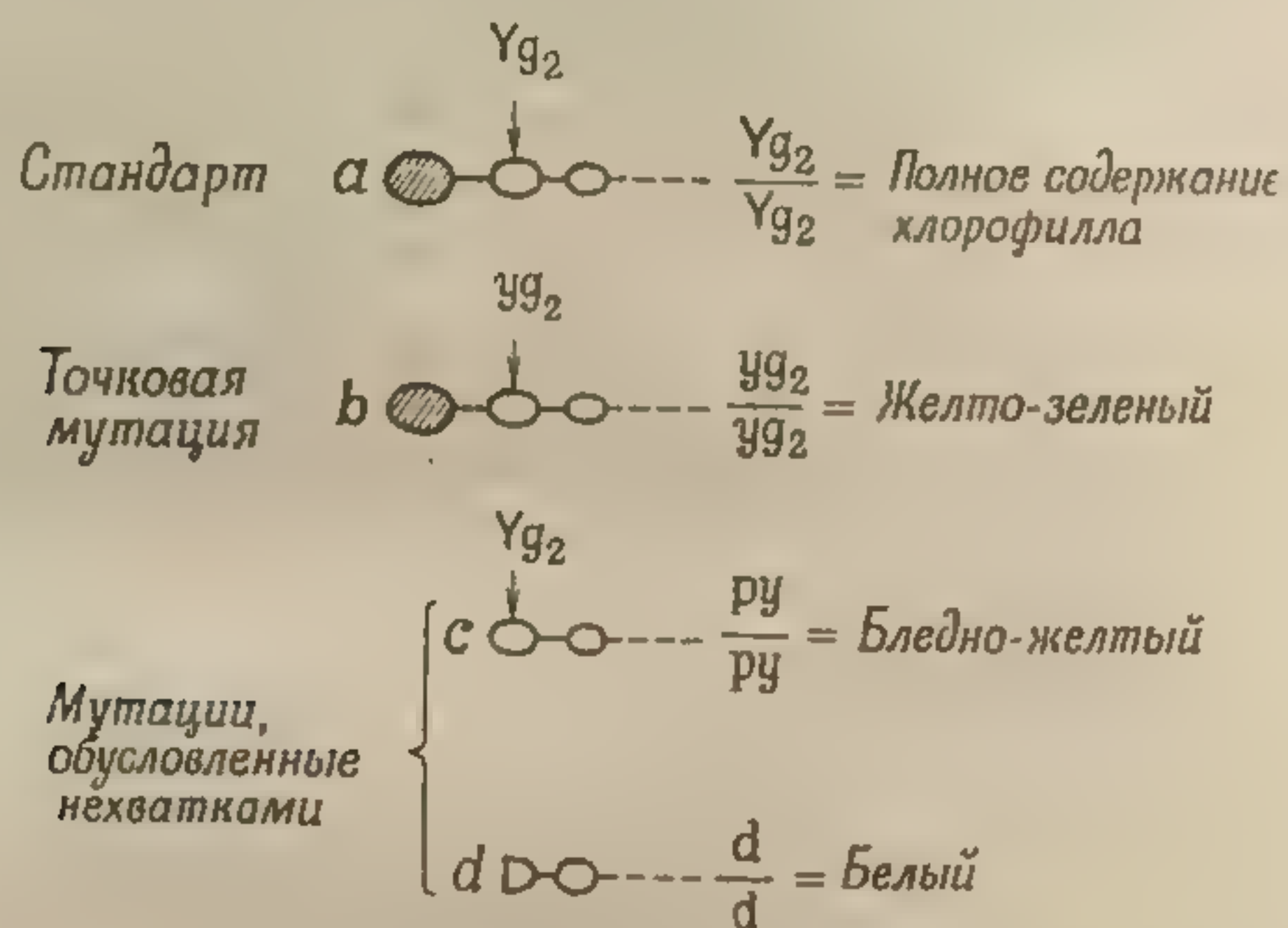
Рецессивные мутантные признаки *achaete*, *yellow* [444], *roughest*² (*rst*²) [167] и *white* [469] у *Drosophila melanogaster* могут быть результатом как видимых гомозиготных нехваток, так и генных мутаций. Путем цитологического анализа хромосом слюнных желез можно показать, что при этих нехватках выпадают локусы + генов, мутации которых дают соответствующие мутантные признаки. Так, и нехватка в X-хромосоме по локусу *white*, и точечная мутация ($w^+ \rightarrow w$) приводят к появлению рецессивной белой окраски глаз, которые бывают при этом лишены всяких следов красноватого глазного пигмента. Генную мутацию можно отличить от маленькой, невидимой нехватки, показав, что возможны обратные мутации к «активному» аллелю, как это было описано в гл. III.

Вторым организмом, кроме дрозофилы, на котором было показано, что несомненная нехватка вызывает мутантный фенотип [389, 597], является кукуруза (фиг. 66). Вероятно, и у других организмов встречаются подобные аберрации.

Поскольку сходные фенотипические изменения могут быть достигнуты различными путями, необходимо лишь видоизменить первоначальную теорию присутствия — отсутствия, добавив к ней возможность инактивации гена. Гены, кажущиеся полностью неактивными в отношении вызывания типичного эффекта, часто называют *аморфами* [443]. Мы будем употреблять этот термин в его наиболее широком смысле, подразумевая под аморфом либо аллель, обуславливающий отсутствие типичного эффекта, либо отсутствие гена, так как у большинства организмов эти два случая совершенно невозможно различить. Однако, по всей вероятности, большинство аморфов не является нехватками, ибо нехватки в гомозиготном состоянии обычно летальны; описанные выше случаи представляют собой редкие исключения, из чего следует, что инактивация, по-видимому, встречается чаще, чем отсутствие.

Необходимо подчеркнуть, что в применении к гену термин «отсутствие активности» представляет собой лишь описание фено-

типического эффекта, и, хотя он и подразумевает отсутствие активности самого гена, доказать это можно только в случаях нехваток. Видимая инактивация может касаться лишь одной из сторон функционирования гена, и теоретически он может оставаться активным в отношении других действий на организм. Аллельные гены a^k и a у бабочки мельничной огневки (*Ephestia kühniella*) обуславливают



Ф и г. 66. Точковая мутация и нехватки у кукурузы, приводящие к появлению рецессивных мутантных фенотипов [389].

Фенотип желто-зеленый возникает в результате точковой мутации, фенотипы бледно-желтый и белый — в результате нехватки у конца хромосомы; лишь у «белых» утерян локус Yg_2 .

рецессивное отсутствие окраски кожи гусеницы, но бабочки a^k/a^k имеют коричневые глаза, а a/a — красные. Гусеницы дикого типа a^+/a^+ пигментированы, а бабочки имеют черные глаза [92]. Таким образом, a^k и a — аморфы в отношении пигментации гусеницы, но не аморфы в отношении пигментации глаза бабочки.

Наряду с аморфами—генами, не оказывающими заметного действия в направлении вызывания эффекта, типичного для стандартного, или $+$ аллеля, существуют также рецессивные гены, вызывающие этот эффект, но в более слабой степени. Эти гены, названные Меллером [443] гипоморфами, по-видимому, оказывают действие, количественно отличающееся от действия $+$ аллеля. В качестве примера действия гипоморфов можно привести действие некоторых аллелей альбиносической серии у морской свинки, так как замена одних аллелей в этом локусе другими приводит к измеримым количественным изменениям в содержании меланина в волосах (полное описание аллелей этой серии и их действия в разно окрашенных линиях морских свинок см. на стр. 280 и последующих). Пять известных аллелей — C , c^k , c^d , c^r , c^a , — вызывают образование у морских свинок из розовоглазой линии сепия различного относительного количества пигмента в волосах (табл. 32).

Как видно
тации: отсутстви
при наличии до
состоянии и пр
гомозиготных по
бинациям. Аллел
ненно, — гипом
чества пигмента,

От
мор

С — . . .
ck ck .
ck cd .
cd cd .
ck cr .
ck ca .
cd cr .
cd ca .
cr cr .
cr ca .
ca ca .

Одно из об
ской свинки мо
ствуют против
подавляя возн
гипоморфы по
Согласно этом
способствовали
лируя выработ
доминант С был
ным аллелем б
воречат такому
морфы действи
На морской
справедливо, и
низма можно
Примером
Drosophila mel
сивным геном
IV хромосома
ными, и числен
типе, как измен

Как видно из таблицы, имеется в общем три степени пигментации: отсутствие пигмента у животных s^a , s^a , полная пигментация при наличии доминантного аллеля S в гомо- или гетерозиготном состоянии и промежуточные степени пигментации у животных, гомозиготных по аллелям s^k , s^d , s^r или гетерозиготных по их комбинациям. Аллель s^a — аморф, промежуточные же аллели, несомненно, — гипоморфы, вызывающие образование меньшего количества пигмента, чем доминантный стандартный аллель S .

Таблица 32

Относительное количество меланина в волосах морских свинок розовоглазой линии сепия [712]

Генотип	% меланина	Фенотип
S —	100	Розовоглазые сепия
$s^k s^k$	88	Промежуточные сепия
$s^k s^d$	65	» »
$s^d s^d$	31	» »
$s^k s^r$	54	» »
$s^k s^a$	36	» »
$s^d s^r$	19	» »
$s^d s^a$	14	» »
$s^r s^r$	12	» »
$s^r s^a$	3	» »
$s^a s^a$	0	Без меланина

Одно из объяснений действия гипоморфов и аморфов у морской свинки могло бы заключаться в предположении, что они действуют против стандартного типа (интенсивно пигментированного), подавляя возникновение типичного эффекта, причем гомозиготные гипоморфы подавляют его неполностью, а аморфы — полностью. Согласно этому объяснению, необходимо, чтобы гены серии S не способствовали образованию меланина, а препятствовали ему, регулируя выработку вещества ингибитора. Таким образом, полный доминант S был бы неактивным аллелем, аморфом, а наиболее активным аллелем был бы s^a . Данные, приведенные в табл. 32, не противоречат такому объяснению. Согласно другому объяснению, гипоморфы действуют в том же направлении, что и стандартный аллель.

На морской свинке нельзя проверить, какое из этих объяснений справедливо, но это возможно на дрозофиле, так как у этого организма можно получать и легко распознавать удвоение хромосом.

Примером может служить описанный Шульцем [549] опыт на *Drosophila melanogaster* с локализованным в IV хромосоме рецессивным геном *shaven* (*sv*), уменьшающим число щетинок на теле. IV хромосома *D. melanogaster* очень коротка по сравнению с остальными, и численные изменения ее не отражаются так резко на фенотипе, как изменения в числе других хромосом (см. гл. X, стр. 285 и

далее). Изменение числа генов *shaven* в генотипе в остальном диплоидной мухи, осуществляемое путем добавления лишней IV хромосомы, приводит к следующим результатам:

$$sv < sv/sv < sv/sv/sv < sv/+ = + \cdot + \cdot$$

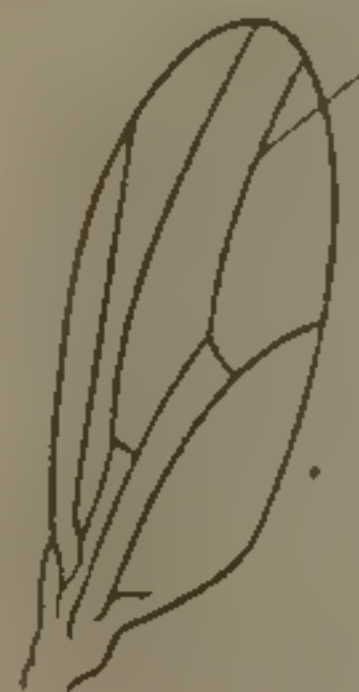
Значок $<$ в данном случае означает, что по мере увеличения числа генов *sv* фенотип все более приближается к дикому типу вследствие добавления щетинок. Поэтому сильнее всего выраженный фенотип *shaven*, характеризующийся наименьшим числом щетинок, получается при наличии лишь одного гена *sv*. На основании этих данных трудно избежать вывода, что ген *shaven* действует в том же направлении, что и стандартный аллель sv^+ , но слабее. Как и следовало ожидать, можно добавить слишком много генов *sv* и получить муху, у которой щетинок будет больше, чем у дикого типа. Действительно, мухи генотипа *sv/sv/sv/sv* имеют добавочные щетинки.

Сходное действие мутантных аллелей в направлении типичного эффекта описано и в ряде других случаев у *D. melanogaster*, например в случае аллелей локуса *bobbed* [603, 632] и локуса *white* [443]. В обоих этих случаях удвоение целой хромосомы или ее части, несущей мутантный аллель, делает фенотип более нормальным, а при единичной дозе мутантного аллеля (оказывающегося в гемизиготном состоянии вследствие нехватки всей гомологичной хромосомы или ее части, включающей данный ген) мутантный эффект, как и следовало ожидать, бывает выражен наиболее резко.

Данный аллель можно с уверенностью отнести к категории гипоморфных лишь в том случае, если он удовлетворяет указанным выше условиям при испытании с дупликациями и нехватками. Эти испытания практически можно провести лишь у очень немногих организмов. Однако, поскольку многие гены дрозофилы, кукурузы и других растений с увеличением их дозы все более приближают фенотип к дикому типу, можно предположить, что гипоморфные рецессивы довольно обычны у всех организмов.

Изредка оказывается, что некоторые гены в гомозиготном состоянии или в сочетании с аллельным имаморфом вызывают типичный эффект, но в гетерозиготной комбинации с другими аллелями ведут себя необычным образом. Несколько убедительных примеров этого явления представляет серия аллелей *cubitus interruptus* (*ci*), локализованная в IV хромосоме *D. melanogaster* [605, 606, 608]. Мутантные аллели этой серии вызывают перерыв в четвертой жилке (L4) крыла (фиг. 67). Фенотипическое выражение меняется в зависимости от температуры, причем наиболее резкий мутантный эффект наблюдается при температуре около 14°. В опытах, описанных ниже, степень выражения мутации определялась величиной перерыва в жилке и пенетрантностью (т. е. процентом особей определенного генотипа, имеющих мутантный фенотип). В результате различного сочетания мутантных аллелей встречаются все переходы от целой, непрерывной четвертой жилки до ее полного отсутствия на участке между поперечной жилкой и вершиной крыла. Для удобства

измерения эффекта класса, изображающие тантные типы. Действие троек аллелей *ci* перерыва *ci*°. Это именно



N
+ +
+ нехв.

Фиг. 67. ВЛ.
Нехватка *def. M - 4*
и другие

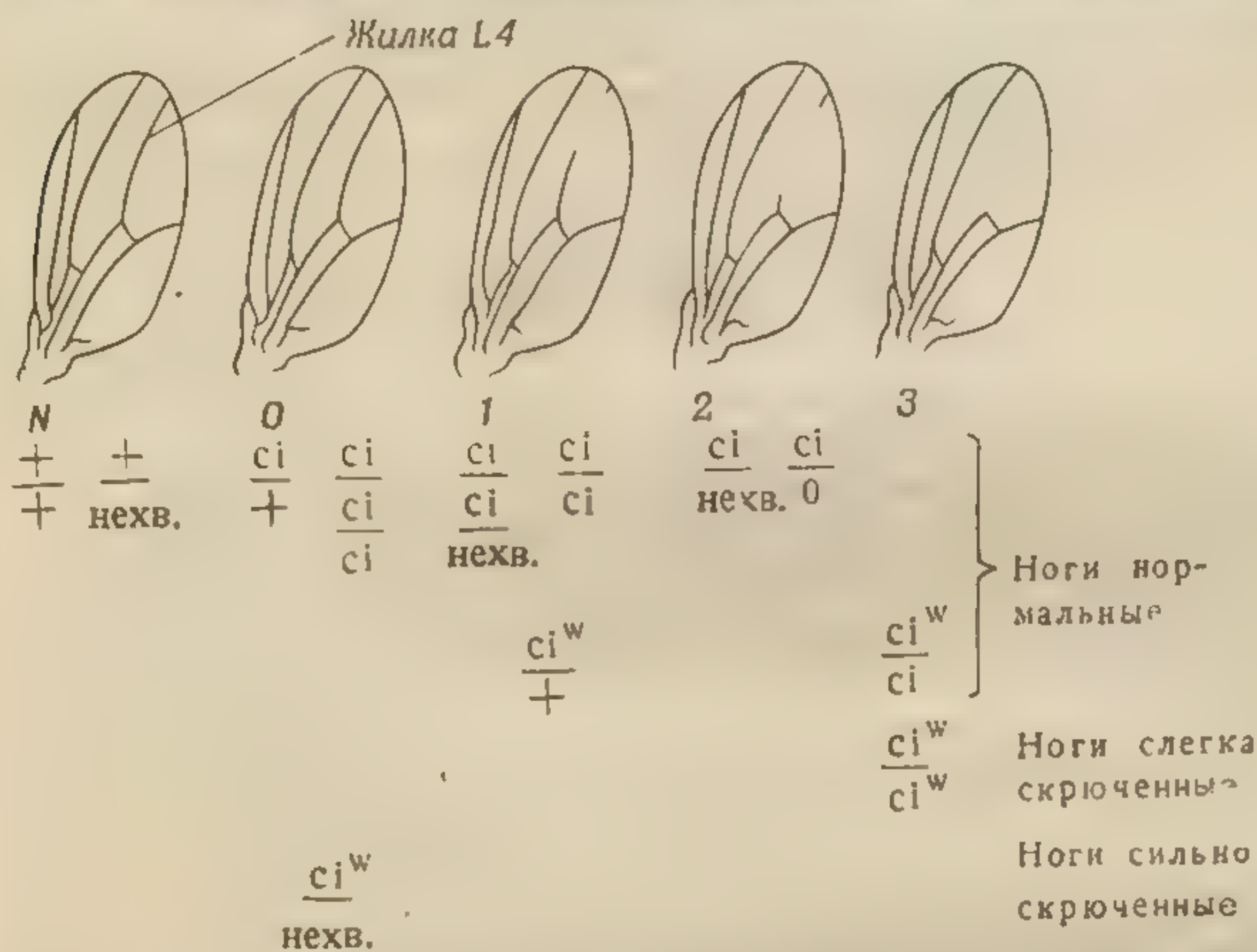
на этом сходстве
лем *ci* дает больше
аллелю + и нехв.

Таким образом
вания нормаль
зывает недоста
присутствуют
аллель *ci*^w (си
над + и усили
дозы:

Отсюда, вид
воположном де
с последним, в

измерения эффекта генов были установлены четыре произвольных класса, изображенные на фиг. 67, и по ним классифицированы мутантные типы.

Действие трех аллелей ci^- , ci и ci^w таково. С увеличением числа аллелей ci перерыв в жилке уменьшается: $+/- > ci/ci/ci > ci/ci > ci/o$. Это именно то, чего следовало ожидать от гипоморфа, однако



мальна, чем у мух $ci^w/нехв.$ Аналогичная конкуренция наблюдается у мух ci/ci^w . Отрицательное действие ci^w на тип сочетается с какой-то способностью содействовать образованию типа, так как при единичной дозе ci^w фенотип приближается к норме. Однако нельзя забывать и других генов в геноме, влияющих на этот же признак, ибо по некоторым данным, представленным на фиг. 67, оставшаяся часть IV хромосомы, несущей нехватку, также действует в направлении развития типа как в мухах ci , так и ci^w .

Поскольку аллели ci подавляют развитие типичной формы, что особенно выражено в комбинации с $+$ и друг с другом, их можно назвать *антиморфами* [443]. Диагностический признак, отличающий антиморфы от гипоморфов, заключается в пониженной способности образовывать нормальный фенотип, еще более уменьшающийся в гетерозиготах с другими аллелями. Между аллелями наблюдается взаимодействие описанного конкурентного типа, приводящее к *отрицательному* эффекту. Гипоморфы же как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии действуют кумулятивно в направлении развития дикого типа, что приводит к *аддитивному* эффекту.

Аллель ci^w не только прерывает жилку крыла, но вызывает и скрючивание ног, в крайних случаях настолько сильное, что оно препятствует вылуплению взрослых мух из куколочной оболочки. Наиболее резко выраженное скрючивание наблюдается у мух $ci^w/нехв.$, у которых, как мы только что видели, крылья почти нормальны. В сочетании с другими аллелями ci^w оказывает следующее относительное фенотипическое действие на ноги:

$$ci^w/нехв. < ci^w/ci^w < ci^w/+ = +/+.$$

Таким образом, аллель $+$ полностью доминирует над ci^w в отношении его действия на развитие ног, а поскольку два ci^w приводят к более нормальному развитию ног, чем один ci^w , постольку этот аллель, будучи антиморфом в отношении развития крыльев, оказывается гипоморфом в отношении развития ног.

Другой группой аллелей, интенсивно изучавшихся в отношении аллельного взаимодействия антиморфного типа, является серия аллелей A у кукурузы. Гены этой серии в известной мере контролируют образование антоцианов, антоксантинов и, вероятно, других пигментов как в самом растении кукурузы, так и в алейроне и перикарпе зерен. Замещение одних аллелей другими в локусе A влияет по крайней мере на три разных типа пигментов: пурпурные антоцианы, включая производное цианидина—хризантемин, желто-бурые антоксантины, включая изокверцитин, и красный пигмент перикарпа, химическая природа которого, по-видимому, точно неизвестна [347, 535]. Вообще, когда пурпурные и красные пигменты отсутствуют, бурый пигмент замещает их в перикарпе и в других частях растения, тогда как алейрон в описанных ниже генотипах бывает либо пурпурным, либо бесцветным.

В табл. 33 приведены некоторые из известных аллелей A и описанные Лафнаном [346] фенотипы гетерозиготных комбинаций этих

Влияние за
Аллель

A-st ...	Пурп
A ^b	Светл пурп
A ^{ch}	
A ^{br}	
A ^w	Блед
A ^{a-41} ...	Блед
a ^b	Блед
a	Буро

*Доминантно
с A-st.

аллелей с ам
доминирует на
тации растени
ар дают в гете
Если рассмат
алейрона, то м
ранее рассмот
имеются амор
ший полное ра
аллелей, соот
только мы обр
зультатов вза
отклонения от
чением дозы п
тривать как п
ствуют по отно
правлении, об
перикарпе и к
кими, как A^b

Однако в п
пигмента, чем

Таблица 33

Влияние замещения одних аллелей другими в локусе А у кукурузы [346]
(По другим локусам генотип данных растений — Рl В)

Аллель	Фенотип гетерозигот по а			Кумулятивный эффект при увеличении дозы	«Конкуренция» в комбинациях с A^{br}
	растение	алейрон	перикарп*		
A-st ...	Пурпурное	Пурпурный	Красный	0	—
A^b	Светло-пурпурное	»	Доминантный бурый	0	—
A^{rb}	»	»	Рецессивный красно-бурый	0	—
A^{br}	»	»	Рецессивный бурый	+	—
A^w	Бледное ++	Бледный ++	»	+	0
A^{d-41} ...	Бледное +	Бледный +	Доминантный бурый	0	+
a^p	Бледное	Бледный	»	0	+
a	Бурое	Бесцветный	Рецессивный бурый	0	0

*Доминантность в отношении признаков перикарпа определена по комбинациям с A-st.

аллелей с аморфом а из той же серии. Стандартный аллель A-st доминирует над всеми остальными аллелями в отношении пигментации растения и алейрона, но некоторые аллели — A^b , A^{d-41} и a^p дают в гетерозиготах с A-st и A^{rb} доминантный бурый перикарп. Если рассматривать только антоциановую окраску растения и алейрона, то может показаться, что аллели серии А соответствуют ранее рассмотренной серии С у морской свинки, поскольку здесь имеются аморф, доминантный стандартный аллель, обуславливающий полное развитие антоциановой окраски, и ряд промежуточных аллелей, соответствующих описанию гипоморфов. Однако как только мы обратимся к рассмотрению фенотипов перикарпа и результатов взаимодействия в гетерозиготах, становятся очевидными отклонения от этой простой схемы. Поскольку A^{br} и A^w с увеличением дозы производят кумулятивный эффект, их можно рассматривать как гипоморфы. С другой стороны, A^b , A^{d-41} и a^p действуют по отношению к стандартному типу в противоположном направлении, обуславливая развитие доминантной бурой окраски в перикарпе и конкурируя в комбинациях с другими аллелями, такими, как A^{br} . Например, в отношении пурпурного пигмента

$$A^{br}/a > A^{br}/a^p.$$

Однако в перикарпе гетерозигот A^{br}/a^p образуется больше бурого пигмента, чем у A^{br}/a . Таким образом, a^p действует в направлении

стандартного типа, образуя пурпурный пигмент, хотя не кумулятивно, так как $a^p/a^p = a^p/a$, и в то же время конкурирует в процессе образования пурпурного пигмента с другими аллелями. Кроме того, он определенно способствует выработке бурого пигмента, причем в его сочетаниях с другими аллелями, например A^{br} , не наблюдается конкуренции в отношении образования этого пигмента. Подобно гену ci^w дрозофилы, a^p , A^d-41 и A^b можно считать антиморфами в отношении одного признака — образования пурпурного пигмента, но в отношении другого — бурой пигментации — они ведут себя как гипоморфы или полные доминанты. По мнению Лаффана [346], эти результаты показывают, что A^d-41 , A^b и a^p контролируют синтез как антоцианов, так и бурого пигмента, тогда как более типичные гипоморфы влияют лишь на антоциановую пигментацию.

Весьма вероятно, что антиморфный тип действия — относительно обычное явление. Многие гипоморфы могут в действительности быть слабыми, трудно различимыми антиморфами, и можно ожидать, что в каждой серии множественных аллелей некоторые аллели действуют как антиморфы.

Хотя большинство мутантных генов и попадает в одну из этих трех категорий — аморфы, гипоморфы или антиморфы, когда их влияние на фенотип сопоставляется с влиянием их аллелей, некоторые гены выпадают из этой классификации. Например, ряд доминантных мутантных генов у *D. melanogaster*, вроде Hairy wing, Bristle, Lyra и Dichaete, обуславливают фенотип, полностью доминирующий над диким типом. Так, в случае Hairy wing [443]:

$$Hw/Hw > Hw/+ = Hw.$$

Если к любому из этих генотипов добавить дупликацию, содержащую аллель Hw^+ , число добавочных щетинок, развивающихся под влиянием гена Hw , не уменьшается.

$$Hw/Hw/+ = Hw/Hw$$

$$Hw/+/+ = Hw/+$$

Нормальный аллель $+$ не влияет на фенотип Hw и, следовательно по отношению к Hw он является аморфом. Меллер [443] назвал Hw и подобные ему гены *неоморфами*, имея в виду подчеркнуть, что они стали выполнять совершенно новую функцию, полностью отличную от выполнявшейся нормальным аллелем. Это решение основано на предположении, что, если в гетерозиготах нет ни конкуренции, ни синергического действия между аллелями, функции последних должны быть независимы друг от друга.

Отсутствие каких-либо указаний на взаимодействие между аллелями характерно также для наследования антигенной специфичности. Напомним (гл. IV), что в гетерозиготах по двум аллелям, каждый из которых контролирует образование определенного антигена, ни один из них не доминирует над другим, хотя, в гетерозиготе

и может образовываться, что каждая часть как неоморфы, распространить и на все несовместимости у контролирующих аллелей, что в действительности можно обнаружить аллелей.

Если допустить, аллелей на фенотипической первичной функции, вать действие различия, чаще можно предположить, что первичный генный эффект, типичный для количества, но что количество э достаточным для объяснения, что аморфы вырабатывают его, оказывает влияния, представляет собой, шается на основе п, ваются качественно, подробнее рассматрив

В обычной серии, руется над всеми остальными, аморфами или нехваткой гомозиготном состоянии аллеля увеличивается, не происходит ника, аллеля ослабляется, или сводится к нулю, случаями полного до, полности неоморфов ра, Эти два явления —, тому, различаются л, положения мы их з, Построить модель, ния количества, предположить, что а, представляются собой, видно, будет основны

и может образовываться меньше антигена каждого типа. В том смысле, что каждый из аллелей «нейтрален», их можно рассматривать как неоморфы. Представление о неоморфах можно далее распространить и на взаимоотношения, существующие между аллелями несовместимости у растений. Эти аллели обнаруживают независимость действия, которую можно сравнить с наблюдаемой у генов, контролирующих антигенную специфичность, хотя Льюис [367] и показал, что в диплоидной пыльце, образуемой тетраплоидами, можно обнаружить взаимодействие между некоторыми из этих аллелей.

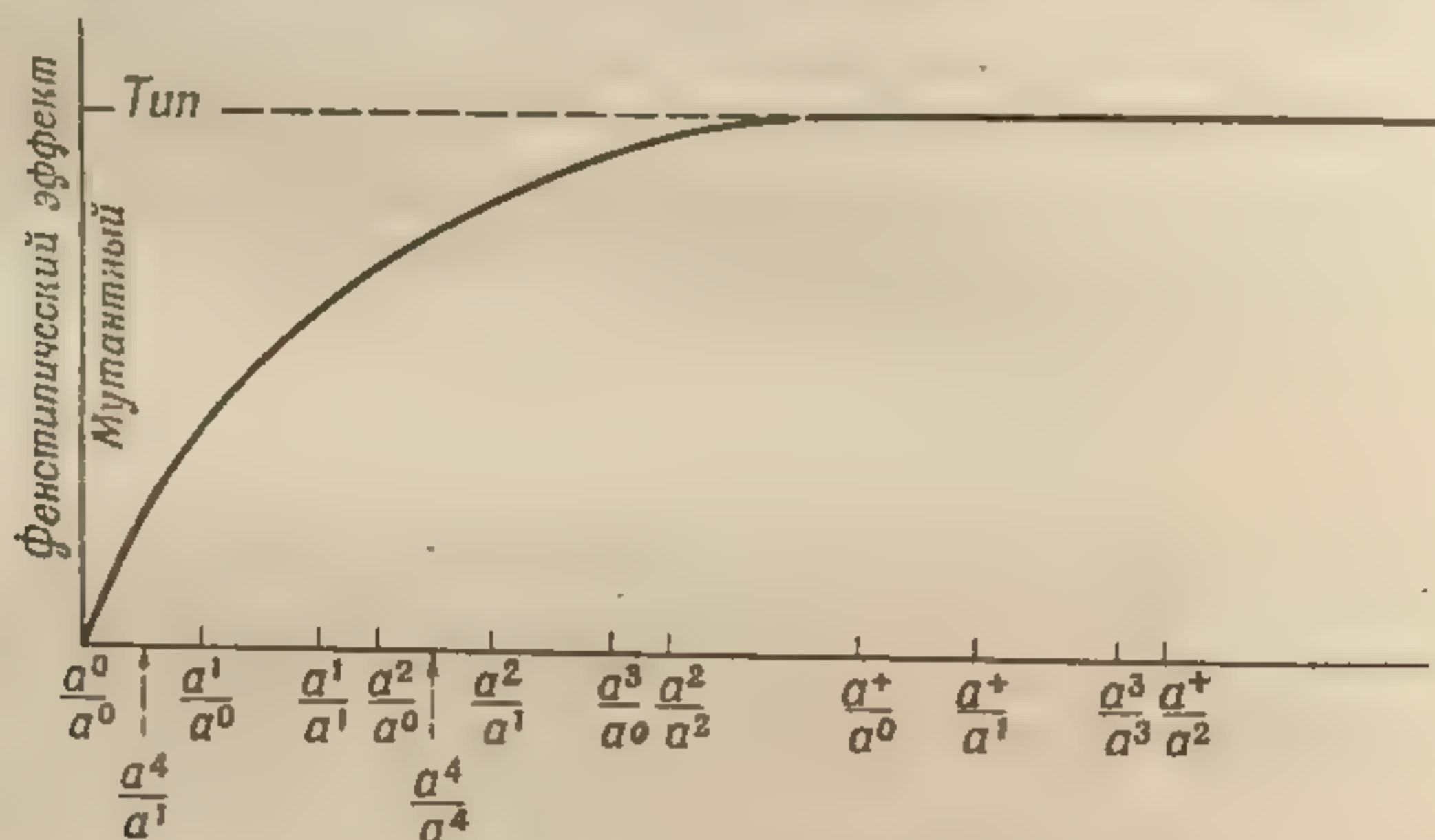
Если допустить, что выводы относительно влияния замещения аллелей на фенотип позволительно экстраполировать до уровня первичной функции генов, то можно биохимически интерпретировать действие разных типов аллелей, описанных выше. В этом случае можно предположить, что гипоморфные аллели вырабатывают первичный генный продукт, непосредственно участвующий в вызывании эффекта, типичного для нормального, доминантного аллеля, но что количество этого продукта оказывается ограниченным и недостаточным для обеспечения типичного эффекта. Можно предположить, что аморфы вовсе не вырабатывают генного продукта или вырабатывают его в столь незначительном количестве, что он не оказывает влияния на фенотип. Вопрос о неоморфах и антиморфах представляет собой особую проблему, которая лучше всего разрешается на основе предположения, что в этих случаях вырабатываются качественно различные генные продукты. Эти гипотезы подробнее рассматриваются в следующих разделах.

ДОМИНИРОВАНИЕ

В обычной серии аллелей один из них настолько полно доминирует над всеми остальными, что в гетерозиготах с гипоморфами, аморфами или нехватками обуславливает тот же фенотип, что и в гомозиготном состоянии. Если доза такого «гапло-достаточного» аллеля увеличивается за пределы диплоидности, в фенотипе обычно не происходит никаких изменений. Полная доминантность такого аллеля ослабляется лишь в некоторых комбинациях антиморфами или сводится к нулю в присутствии неоморфов. Между крайними случаями полного доминирования и предположительной нейтральности неоморфов располагается ряд промежуточных состояний неполного доминирования гипоморфов и антиморфов в гетерозиготах. Эти два явления — полное и неполное доминирование, — по-видимому, различаются лишь в степени, и именно исходя из этого предположения мы их здесь и рассмотрим.

Построить модель, объясняющую доминирование с точки зрения количественного действия гена, сравнительно просто. Если предположить, что аллели, занимающие более низкие места в серии, представляют собой гипоморфы или аморфы, то объяснение, очевидно, будет основываться на степени активности, направленной на

обеспечение нормального фенотипа. Доминантный аллель оказывается не только наиболее активным, но и сверхактивным в том отношении, что, присутствуя в единичной дозе, он производит достаточно или более чем достаточно генного продукта для превращения какого-то субстрата в продукт, необходимый для развития нормального фенотипа. Можно ожидать, что любое увеличение дозы данного аллеля приведет к выработке большего количества генного продукта, однако, поскольку количество этого продукта, могущее активно участвовать в данной клеточной среде в вызывании типичного эффекта, ограничено, то в фенотипе не произойдет



Фиг. 68. Влияние дозы, выраженной в концентрации генного продукта на фенотип.

Кривая иллюстрирует гипотезу, согласно которой увеличение числа гипоморфных генов приводит к увеличению количества генного продукта и связанному с этим влиянию на фенотип. После достижения некоторого порога всякое увеличение количества генного продукта более не влияет на фенотип (объяснение см. в тексте).
 a^+ — доминантный аллель, a^1 , a^2 — гипоморфы, a^0 — аморф, a^3 — изо-аллель, a^4 — антиморф.

никаких изменений. Поэтому избыток генного продукта будет неэффективным. Если гипоморфные аллели даже в гомозиготном состоянии вырабатывают меньше генного продукта, чем доминант, то они, очевидно, будут действовать как рецессивы, а в гетерозиготе с другими гипоморфами должны вызывать промежуточный эффект, и ни один из них не будет доминировать над другим. Графически эта модель представлена на фиг. 68. Количественные данные, имеющиеся по серии С морской свинки, как и фенотипические выражения гетерозиготных комбинаций многих других аллельных серий, приблизительно соответствуют этому объяснению. Существование порога, после которого дальнейшее увеличение концентрации генного продукта уже не вызывает дальнейших изменений фенотипа, можно вслед за Райтом [709, 710] объяснить, исходя из предположения о наличии связи между концентрациями фермента и субстрата.

Как уже отмечалось в гл. VI при обсуждении кинетики ферментных реакций, при известных условиях избытка фермента по отно-

шению к субстрату не влияет или влияет незначительно на образование продукта, что доминирует, что обуславливает всегда оказывающееся то дальнейшее увеличение продукта. При теоретически дукта реакции, являющегося субстрата. При помощи

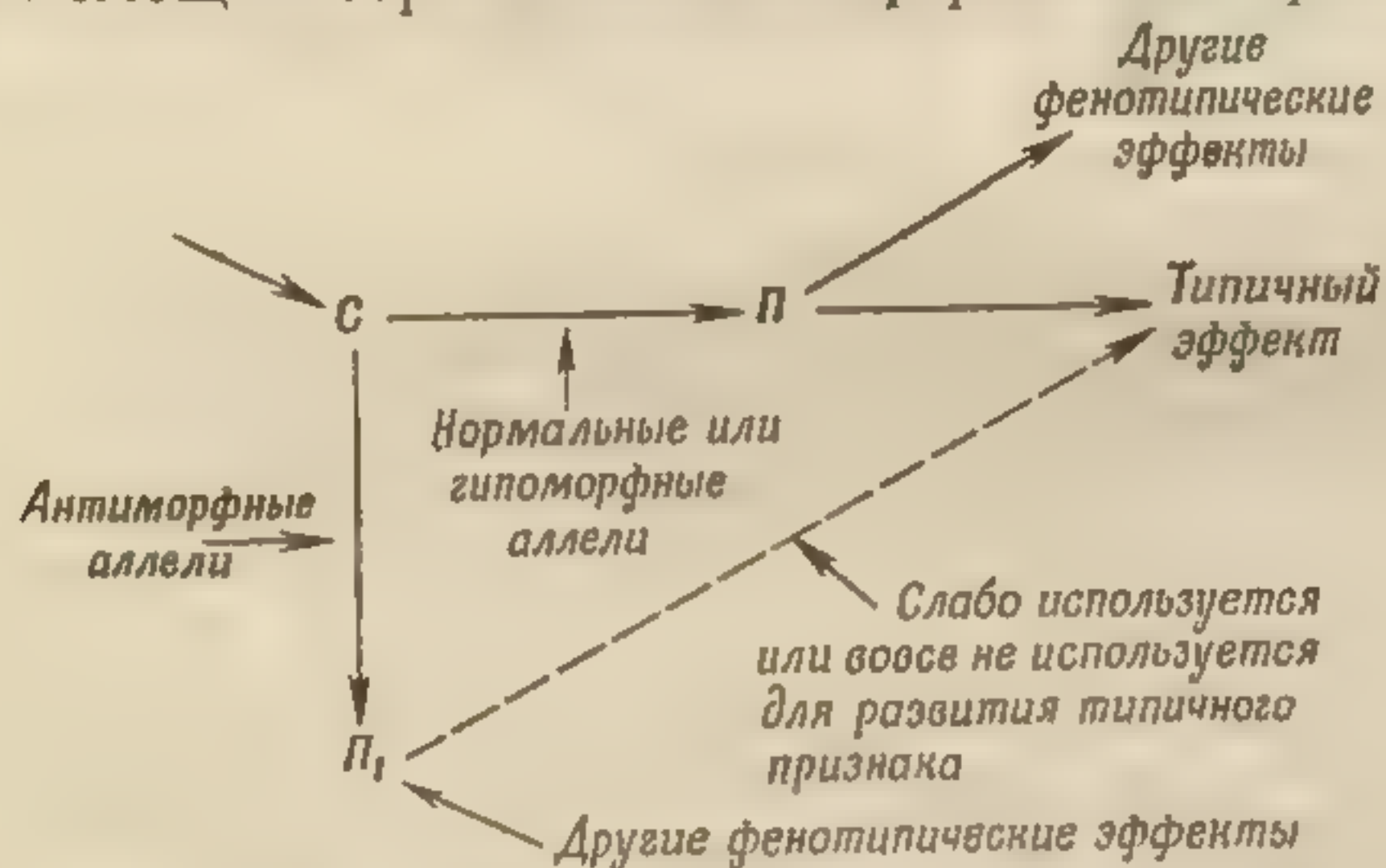
Антиморфные аллели

Фиг. 6

объяснить также и предположить, что гомозиготного количества гена, должно повлиять на фенотип. Представление о том, что гипоморфных аллелей, осн. Позже к ней просто добавляются промежуточные, как и следовало бы.

Разработать модель, когда все аллели, по-разному влияющие на фенотип, относительности антиморфных аллелей, допустить, что аллели их первичного действия

шению к субстрату дальнейшее увеличение концентрации фермента не влияет или влияет лишь в незначительной степени на скорость образования продукта реакции (см. фиг. 33, А, Б). Если предположить, что доминантный ген, представленный в единичной дозе, обуславливает выработку фермента в такой концентрации, что он всегда оказывается в большом избытке по отношению к субстрату, то дальнейшее увеличение количества фермента (например, в результате увеличения дозы гена) не должно повышать темп выработки продукта. При этих условиях единственным фактором, который теоретически должен повлиять на скорость выработки продукта реакции, является изменение количества образующегося субстрата. При помощи теории кинетики ферментных реакций можно



Фиг. 69. Возможное объяснение механизма действия антиморфных генов.

объяснить также и результаты, полученные с гипоморфами. Если предположить, что гипоморф обуславливает выработку настолько незначительного количества фермента, что субстрат оказывается в относительно избыточной концентрации (см. фиг. 68), то любое изменение в концентрации фермента, вызванное изменением дозы гена, должно повлиять на скорость образования продукта, а следовательно, и на фенотип.

Представление о том, что доминантность гена есть выражение его большей активности по сравнению с активностью его рецессивных аллелей, основано на теории присутствия—отсутствия. Позже к ней просто добавили дополнительные наблюдения о том, что существуют промежуточные аллели — гипоморфы, обнаруживающие, как и следовало ожидать, промежуточные степени доминантности.

Разработать модель, объясняющую доминантность в тех случаях, когда все аллели, по-видимому, действуют в направлении развития определенного фенотипа или полностью неактивны в отношении этого фенотипа, относительно просто, но при попытках объяснения доминантности антиморфов возникают трудности. Однако если допустить, что аллели одной серии могут различаться в отношении их первичного действия как количественно, так и качественно, то

объяснение становится легким [709, 710]. Под качественным различием подразумевается образование измененного генного продукта (например, фермента), превращающего субстрат в продукт, неспособный обеспечить развитие нормального фенотипа в той же мере, в какой это обеспечивают продукты генов, отличающихся от стандарта лишь в количественном отношении (фиг. 69).

Результатом появления качественно отличающегося генного продукта будет поэтому «конкуренция» за наличный субстрат с относительно более эффективными гипоморфами; если антиморфный генный продукт обладает достаточной потенцией, можно ожидать, что антиморф будет доминировать над гипоморфами и нормальным аллелем данной серии.

ИЗОАЛЛЕЛИ

На основании объяснения доминирования, приведенного в предыдущем разделе, можно предсказать существование аллелей, дающих в гомозиготном состоянии полный эффект дикого типа, а в гетерозиготе с гипоморфами или аморфами — мутантный эффект. Так, обратившись к фиг. 68, мы можем видеть, что если аллель a^3 в гомозиготном состоянии дает концентрацию генного продукта, указанную на кривой, то фенотип гомозиготы будет нормальным, фенотип же гетерозиготного организма или гетерозиготного по a^0 или a^1 — мутантным. Поэтому a^3 можно будет отличить от a^+ только по гетерозиготам с более низко стоящими аллелями данной серии. Возможно также существование некоторого числа аллелей a^+ , более активных, чем аллель a^+ , изображенный на фиг. 68. Такие аллели можно назвать *гиперморфами* [443]. Теоретически они должны быть неотличимы друг от друга и от аллеля a^+ , если только кривая зависимости их эффекта от числа аллелей не окажется измененной таким образом, что они обнаружат себя как гипоморфы с различной активностью.

Влияние трех изоаллелей локуса ci

Температура	14°			26°	
	Тип крыла				
Генотип	N	0	1	N	0
$-ci/+c$	100	0	0	100	0
$+2/-2$	100	0	0	100	0
$+3/+3$	97,5	2,5	0	100	0
$+ci/нехв.$	98,3	1,0	0,7	100	0
$+2/нехв.$	88	10,8	1,2	100	0
$+3/нехв.$	92,7	6,6	0,7	99,1	0,9

*Данные лишь по самкам.

Примером реак-
ческому описанию
чили это название
друг от друга лишь
же при изменении
вий. Штерн и Шеф-
D. melanogaster име-
 ci^+ . Табл. 34 иллю-
вавшихся при двух
состоянии любой из
витие полной жилк-
 $+^3$ имеет жилкован-
лями ci и ci^w показ-
 $+^3$, тогда как $+^2$
активности между н-
влияние генов-моди-
как мы увидим дал-
быть изменено всле-
Поэтому чрезвычайн-
лей, сделать генотип
однородной, чтобы
фенотипические раз-
модификаторами. Пр-
сделаны изогенными
ставляла IV хромос-
существует возможн-
выражении являютс-
 ci , и что в действи-
Можно лишь утвер-
ности генетической
Эта оговорка относи-
которые не рассматр-

D. melanogaster на жилк-

Температура	
Генотип	N
$+ci/ci$	
$+2/ci$	
$-3/ci$	
$+ci/ciw$	96,3
$+2/ciw$	98,6
$-ciw$	32,6

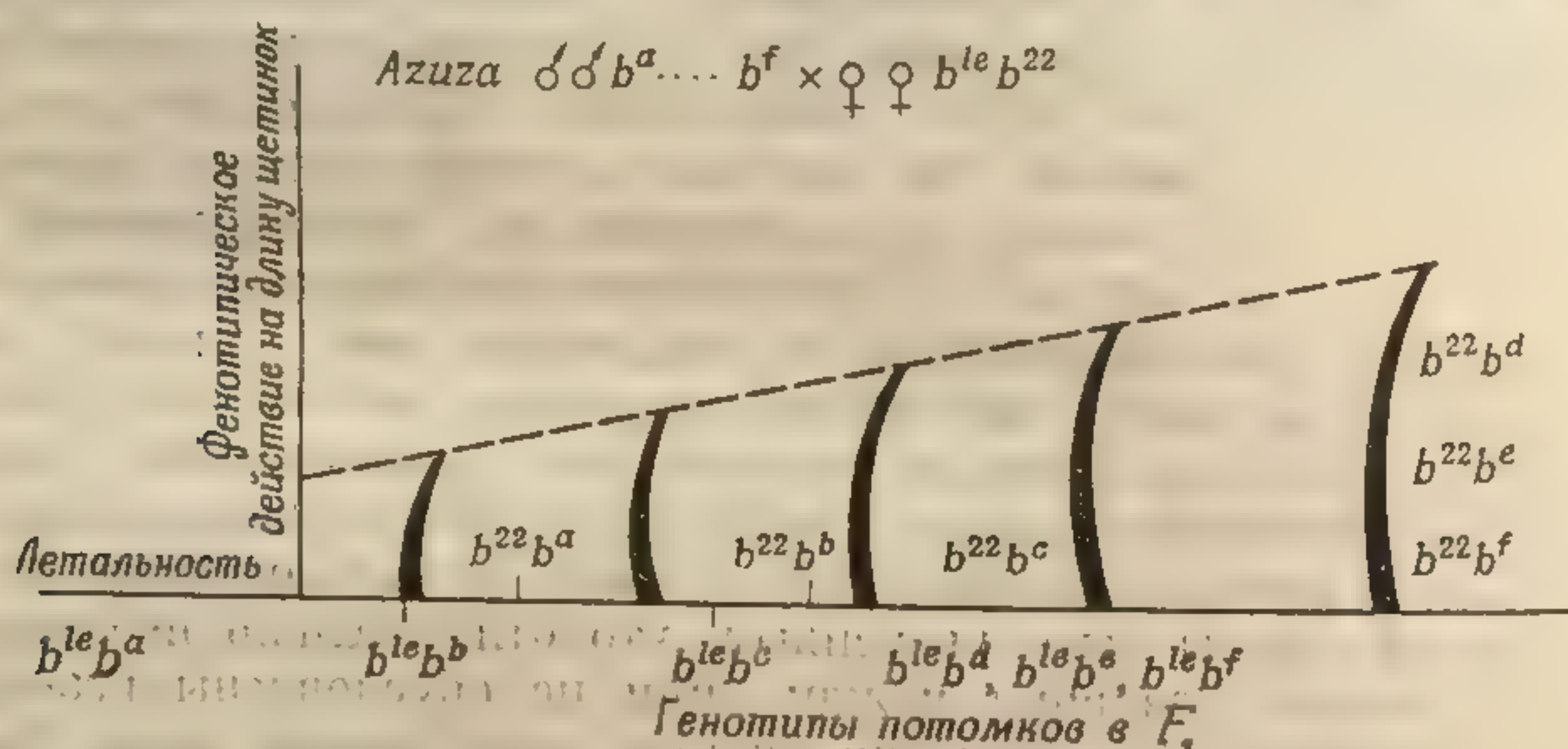
Примером реальных аллелей, соответствующих этому теоретическому описанию, являются так называемые *изоаллели*. Они получили это название потому, что их можно фенотипически отличить друг от друга лишь в некоторых гетерозиготных комбинациях или же при изменении набора генов-модификаторов или внешних условий. Штерн и Шеффер [608] показали, что в серии аллелей ci у *D. melanogaster* имеется по крайней мере три изоаллельных гена ci^+ . Табл. 34 иллюстрирует действие этих аллелей на мух, развивавшихся при двух разных температурах — 26 и 14°. В гомозиготном состоянии любой из этих изоаллелей $+^{ci}$, $+^2$ и $+^3$ обеспечивает развитие полной жилки L4; лишь при 14° некоторое количество мух $+^3$ имеет жилкование типа 0. Комбинации с нехваткой M-4 и аллелями ci и ci^w показывают, что наиболее «слабым» аллелем является $+^3$, тогда как $+^2$ можно рассматривать как промежуточный по активности между ним и $+^{ci}$. Необходимо принимать во внимание влияние генов-модификаторов на выражение этих аллелей, ибо, как мы увидим далее, выражение, вероятно, любого гена может быть изменено вследствие изменения его генотипической среды. Поэтому чрезвычайно важно, в особенности при изучении изоаллелей, сделать генотипическую среду каждого из них возможно более однородной, чтобы быть уверенным, что относительно небольшие фенотипические различия между ними не обусловлены разными модификаторами. При изучении серии ci с этой целью линии были сделаны изогенными по X-, II и III хромосомам; исключение составляла IV хромосома, в которой ген ci локализован. Поэтому существует возможность, что причиной обнаруженных различий в выражении являются модификаторы, расположенные близ локуса ci , и что в действительности существует лишь один аллель $+$. Можно лишь утверждать, что в пределах разрешающей способности генетической техники в серии ci существует три изоаллеля. Эта оговорка относится, конечно, к любым аллелям, даже к тем, которые не рассматриваются как изоаллели.

Таблица 34

D. melanogaster на жилкование крыла [608]*

Температура	14°				26°				
Генотип	Тип крыла								
	N	0	1	2	N	0	1	2	3
+ci/ci	96,3	3,3	0,4	0	100	0	0	0	0
+ ² /ci	98,6	1,4	0	0	100	0	0	0	0
+ ³ /ci	32,6	42,7	23,4	1,3	69,8	20,7	9,5	0	0
+ci/ci ^w					28,8	16,9	50,5	3,7	0,09
+ ² /ci ^w					16,2	17,3	54,2	11,2	0,4
+ci ^w					1,0	1,4	26,1	54,2	17,3

Весьма вероятно, что каждый ген потенциально способен мутировать к очень большому числу различных состояний, превращаясь, таким образом, в аморф, в полный + доминант, в антиморф, неоморф или гипоморф той или иной силы. Все возможные мутации составляют спектр, начинающийся аморфами и оканчивающийся антиморфными и неоморфными отклонениями от типа. Аллели, стоящие в этом спектре близко друг к другу, можно рассматривать как изоаллели; для того чтобы их различить, фенотипические различия между ними часто приходится усиливать путем изменения генотипической среды. С



Фиг. 70. Изоаллели локуса *bobbed* у *Drosophila hydei* [579].

другой стороны, относительное положение аллелей в спектре может так зависеть от внешних факторов, что члены изоаллельных групп будут меняться своими местами в зависимости от условий.

О большой сложности реальных отношений говорят результаты, полученные Спенсером [579], изучавшим изоаллели в локусе *bobbed* *Drosophila hydei*. Ген *bobbed* у *D. hydei* уменьшает размеры щетинок так же, как и ранее описанный ген *bobbed* у *D. melanogaster*. Спенсер нашел, что аллели *bobbed*, происходящие из разных популяций *D. hydei*, обуславливают сложный ряд фенотипов *bobbed*. Было очевидно, что фенотипические различия могут обуславливаться действием модификаторов на один-единственный типичный мутантный аллель, однако результаты соответствующих скрещиваний показали, что здесь имеется серия множественных аллелей. Впрочем, возможно, что различия между аллелями могли быть усилены модификаторами. Все найденные аллели можно было расположить в соответствии с их фенотипическим эффектом в гомозиготе в один ряд, начинающийся крайними летальными типами и кончающийся аллелями, в гомозиготном состоянии дающими нормальный фенотип, но в гетерозиготе с промежуточными аллелями *bobbed* — фенотип *bobbed*. О высокой частоте этих изоаллелей в популяции свидетельствуют данные, представленные на фиг. 70. Это — результаты скрещивания 12 взятых наугад фенотипически нормальных самцов с самками анализирующей линии Azusa (b^{22})/Azusa *bobbed* lethal (b^{le}).

Возможность единиц со сходными постулировалась, что такие должны были бы редко разделяться, из них возник как аллельный по к тому элементу, отделить и тем са.

До относительно ментов или слож области догадок. С чил небольшое чи мутантов *lozenge* этот результат про «локуса» *lozenge*. А сцепленные с полом изменяя количеств и снижая плодови семяприемников [*lozenge* имеют фенотичным. Например, более жизнеспособ [463]. Таким образом, эффект дущем разделе, сле гипоморфов, а вза что в скрещивания l^s появляется нек показать, что генот как результат нер Стертевантом [625] что два аллеля l^s с дополнительным же фенотип. С другой результатом равног генами, оказывающ «glossy» $l^s + l^s$ и ес довало бы ожидать В данном случае, нение, поскольку *lozenge* состоит по разделимых кр.

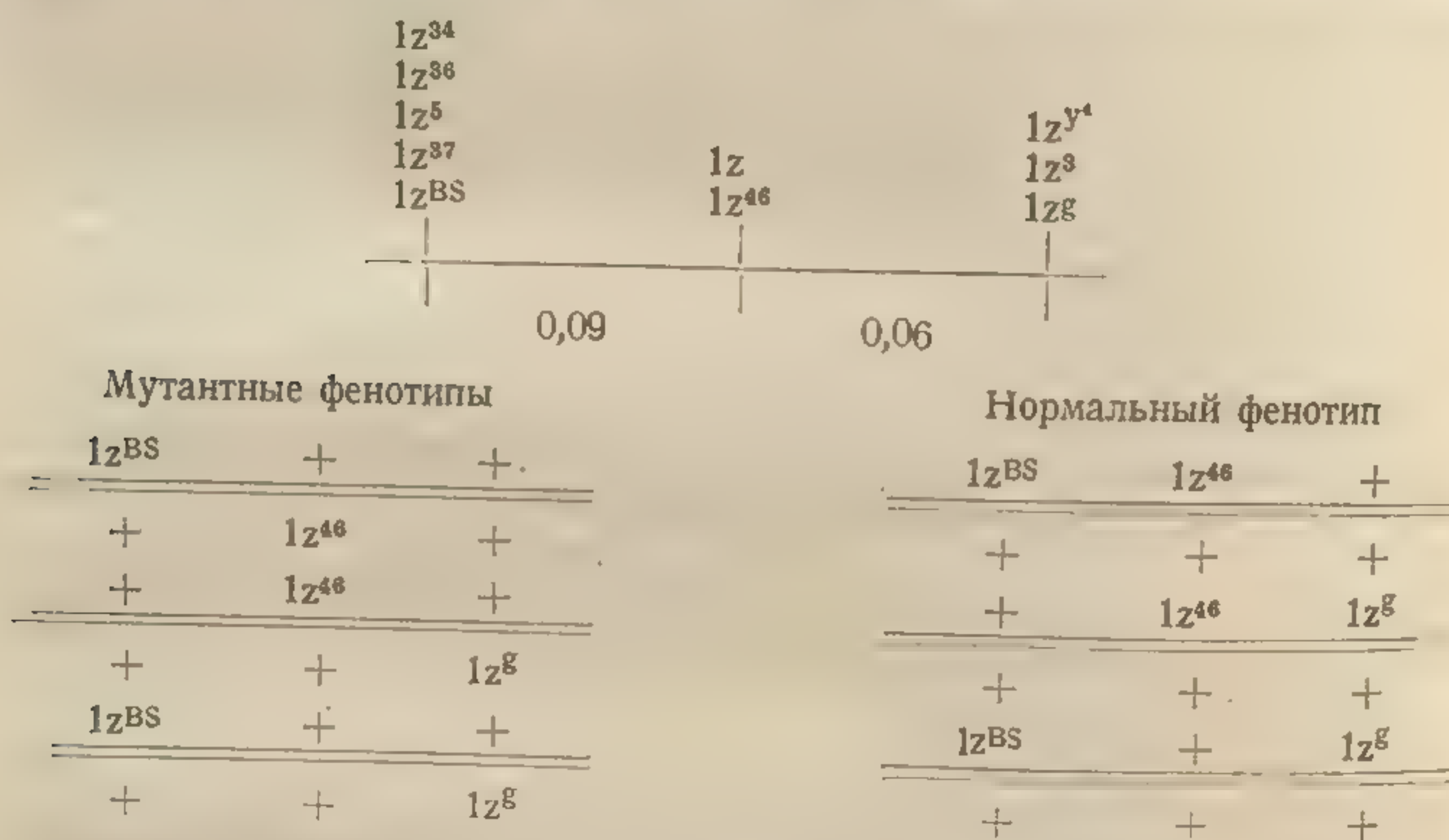
ПСЕВДОАЛЛЕЛИЗМ

Возможность существования тесно сцепленных генетических единиц со сходными или родственными функциями неоднократно постулировалась [3, 557] для объяснения своеобразного фенотипического проявления некоторых серий аллеломорфов. Следовало ожидать, что такие «субгены» или «псевдоаллели», как их называли, должны были бы наследоваться как единое целое и лишь крайне редко разделяться кроссинговером. При появлении мутации в одном из них возникший таким образом аллель рассматривался бы как аллельный по отношению ко всей группе единиц, а не только к тому элементу, от которого он произошел, если его нельзя было отделить и тем самым идентифицировать.

До относительно недавнего времени существование таких элементов или сложная природа некоторых локусов относились к области догадок. Однако в 1940 г. Оливер [460] неожиданно получил небольшое число особей дикого типа от скрещивания двух мутантов *lozenge D. melanogaster* — lz^g (glossy) и lz^s (spectacle); этот результат проще всего объяснялся предположением о сложности «локуса» *lozenge*. Аллели *lozenge* представляют собой рецессивные, сцепленные с полом гены, влияющие на фенотип различным образом — изменяя количество пигмента в глазах, структуру глазных фасеток и снижая плодовитость самок, что связано с отсутствием у них семяприемников [111, 462]. Гетерозиготы по мутантным аллелям *lozenge* имеют фенотип *lozenge*, но он не всегда является промежуточным. Например, некоторые гетерозиготы, как lz^g/lz^s , значительно более жизнеспособны и плодовиты, чем гомозиготы lz^g/lz^g или lz^s/lz^s [463]. Таким образом, здесь наблюдается не промежуточный количественный эффект, которого, на основании сказанного в предыдущем разделе, следовало бы ожидать в результате взаимодействия гипоморфов, а взаимодополняющее действие. Оливер [461] нашел, что в скрещиваниях гетерозиготных самок lz^g/lz^s с самцами lz^g или lz^s появляется некоторое число мух дикого типа, причем можно показать, что генотипически они lz^+ . Это можно было объяснить как результат неравного перекреста, аналогичного описанному Стертевантом [625] у мутантов *Var*. Такое объяснение означало бы, что два аллеля *lz* оказались локализованными в одной хромосоме, дополнительный же продукт неравного перекреста дал нормальный фенотип. С другой стороны, наблюдавшееся явление могло быть результатом равного перекреста между двумя тесно сцепленными генами, оказывающими сходное действие на фенотип. Так, если бы хромосома «glossy» была генотипически lz^g/lz^{s+} , а хромосома «spectacle» — $lz^g+ lz^s$ и если бы между ними произошел перекрест, то следовало бы ожидать появления генотипов lz^g/lz^s и lz^{g+}/lz^{s+} (фиг. 71). В данном случае, по-видимому, справедливо последнее объяснение, поскольку Грин и Грин [230] убедительно показали, что «ген» *lozenge* состоит по крайней мере из трех единиц, или псевдоаллелей, делимых кроссинговером. Построенная ими карта расположения

этих трех локусов приведена на фиг. 71. Они локализовали в указанных на ней локусах и другие аллели, представляющиеся «истинными» в том смысле, что обнаруживают перекрест лишь с аллелями, расположенными в других локусах.

В этой связи, естественно, возникает вопрос, почему, например, мухи $\frac{1z^{46} +}{+ 1z^g}$ фенотипически мутантны, тогда как $\frac{1z^{46} 1z^g}{++}$ нормальны (см. фиг. 71 и дальнейшие примеры). Поскольку данные гены рецессивны, то следовало бы ожидать, что оба эти генотипа будут нормальны. За исключением того факта, что гетерозиготы, несущи



Фиг. 71. Псевдоаллели локуса lozenge у *Drosophila melanogaster* [230].

разные аллели lozenge, в гомологичных хромосомах более плодовиты и фертильны, чем гомозиготы, все прочие фенотипические эффекты lozenge выражены у гетерозигот без изменений. Причины этого своеобразного типа «эффекта положения» неизвестны. Он был отмечен не только в серии lozenge, но и в других группах псевдоаллелей у дрозофилы, например Star-asteroid, Stubble-stubboid, bithorax-bithoraxoid, white-apricot, изученных Льюисом [369, 371—373], и vermilion, изученной Грином [228, 229]. Очевидно, это — явление, имеющее определенное значение, и вполне возможно, что полное его понимание приведет к более точным представлениям о механизме действия гена, взаимодействиях генов и природе мутаций.

На основании своих исследований серий псевдоаллелей у дрозофилы Льюис [372] предложил в высшей степени остроумное объяснение явления эффекта положения этого типа. Он установил, что одна из изученных им групп псевдоаллелей состоит из трех соседних локусов, как показано на фиг. 72. Мутантные гены в каждом локусе оказывают сходное, но не тождественное действие на фено-

тип. Аллели, находящиеся в локусах, влияющих на развитие мезоторакса и метаторакса (фиг. 73). Частично метатораксальные (метатораксальные) признаки (метатораксальные) признаки осуществляются

bx
bx³
bx⁴

Передняя часть метаторакса сходна с передней частью мезоторакса; задняя часть метаторакса неизменна

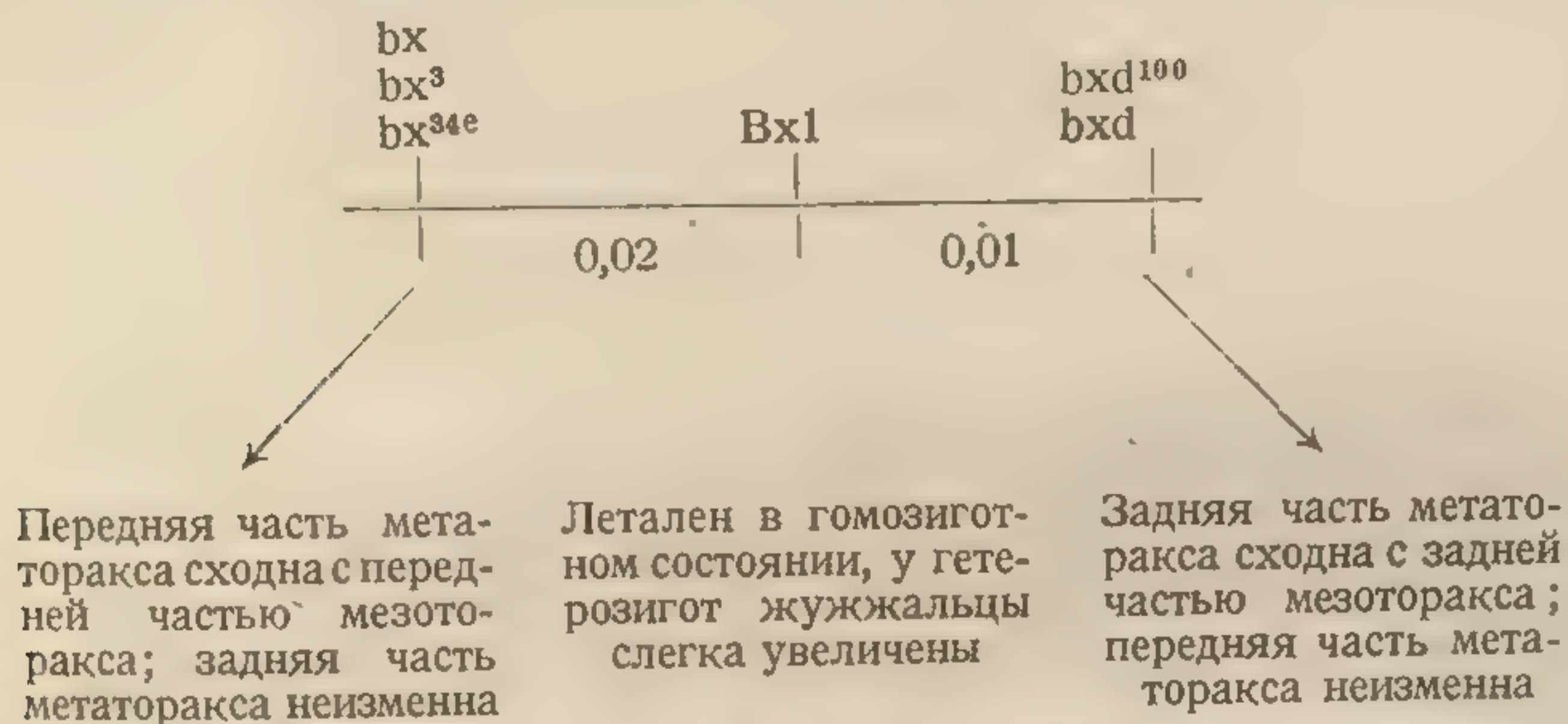
Фиг. 72. Псевдоаллели

Ген bithoraxoid, bxd, не развитие метаторакса и изменение жужжалек. Вращается в образовании полнительная пара ног. Оказывается восьминогий. Лельные гены bx и bxd не аллельного типа, наблю. комбинируются наиболее

bx +
bx + bx

Однако в комбинации проявляется слабый эффект. Присутствуют в гомозиготных комбинациях, но, кроме того, проявляется мезотораксальный эффект. Действие гена bx в брюшном сегменте этого типа взаимно

тип. Аллели *bithorax*, *bх*, *bх^{34e}* и *bх³*, представляют собой рецессивные гены, в различной степени изменяющие метаторакальный сегмент мух и обуславливающие его развитие до уровня мезоторакса (фиг. 73). Частично это выражается в превращении жужжалец (метаторакальные придатки) в крыловидные образования (мезоторакальные придатки); у мух, несущих данные гены, это превращение осуществляется в различной степени.



Фиг. 72. Псевдоаллели серии *bithorax-bithoraxoid* у *Drosophila melanogaster* [372].

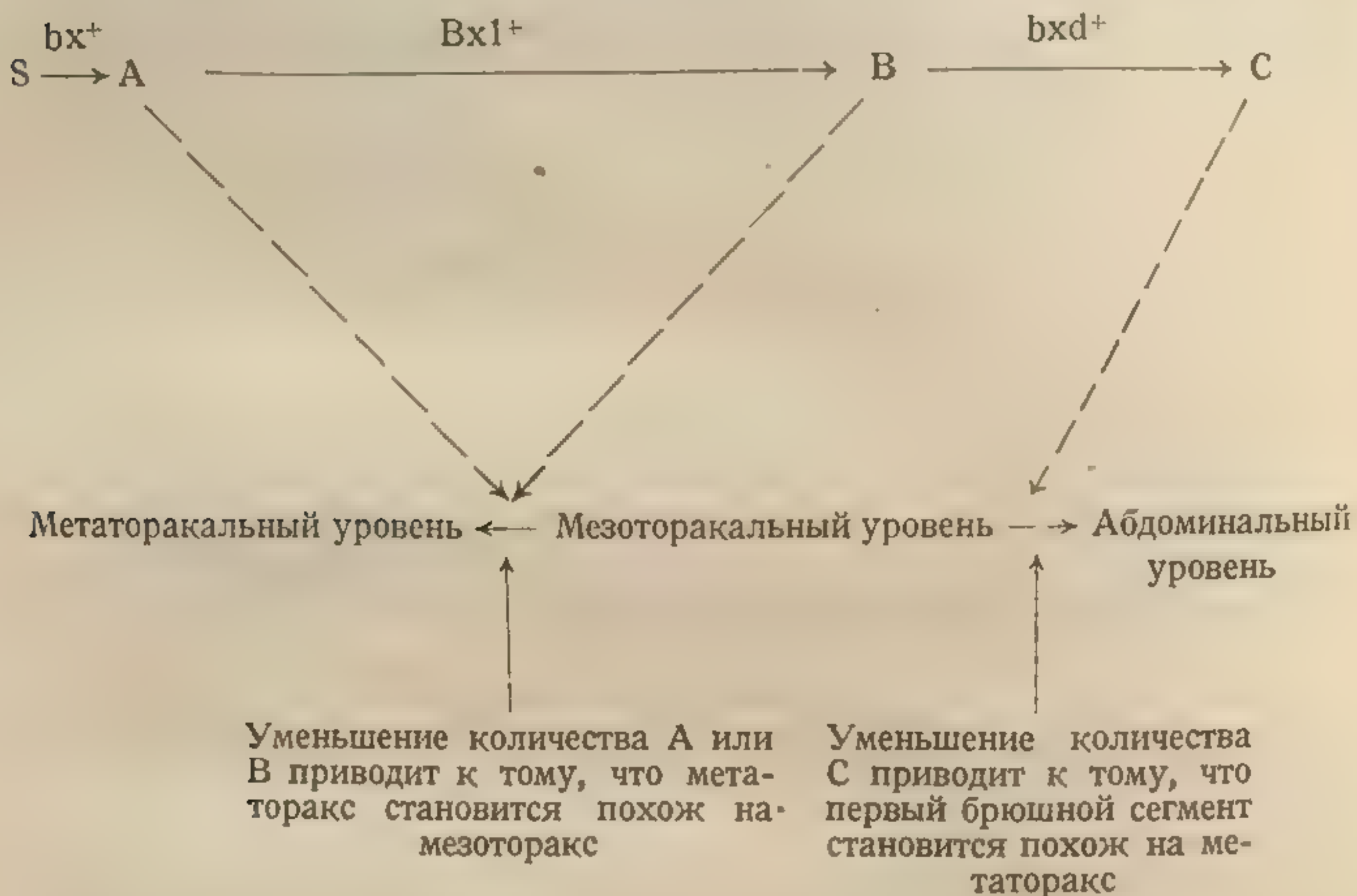
Ген *bithoraxoid*, *bxd*, обуславливает сходное, но не тождественное развитие метаторакса до уровня мезоторакса, сопровождаемое изменением жужжалец. Кроме того, первый брюшной сегмент превращается в образование типа метаторакса и изредка вырастает дополнительная пара ног (торакальные придатки), так что муха оказывается восьминогой. Как и аллели *bх*, *bxd* рецессивен. Неаллельные гены *bх* и *bxd* не обнаруживают эффекта положения псевдоаллельного типа, наблюдаемого в локусе *lozenge*, если только не комбинируются наиболее сильные аллели. Так, фенотипически

$$\frac{bх + +}{+ + bxd} = \frac{bх + bxd}{+ + +} = \frac{+ + +}{+ + +}$$

Однако в комбинации крайних аллелей *bх³* и *bх¹⁰⁰* — $\frac{bх^3 + +}{+ + bxd^{100}}$

проявляется слабый эффект *bithoraxoid*. Когда оба гена *bх* и *bxd* присутствуют в гомозиготном состоянии, двойной мутант обнаруживает комбинацию фенотипических эффектов *bithoraxoid* и *bithorax*, но, кроме того, первый брюшной сегмент также обнаруживает мезоторакальные признаки. Следовательно, можно сказать, что действие гена *bх* в присутствии *bxd* распространяется до первого брюшного сегмента включительно, что указывает на синергический тип взаимодействия между этими двумя генами.

Bithorax-like (Vxl)¹ — доминантный ген, летальный в гомозиготном состоянии. Присутствуя в единственном числе ($+ Vxl +$), он вызывает небольшое увеличение жужжалец и не оказывает никакого другого заметного действия на взрослых мух. Его функциональная близость к bx и bxd обнаруживается особенно в личинках. Летальность гомозигот сказывается на личинках, причем последние обнаруживают признаки, характерные для личинок $bx + bxd/bx +$



Уменьшение количества В и С приводит к комбинации упомянутых фенотипов и развитию первого брюшного сегмента до мезоторакального уровня

Фиг. 73. Гипотетическая схема действия генов $bx+$, $Vxl+$ и $bxd+$ на развитие торакса и первого брюшного сегмента у *Drosophila melanogaster* [370, 372].

Эмбриологи насекомых считают, что уровень развития мезоторакса примитивнее уровней развития метоторакса и брюшка. Льюис предполагает, что первый брюшной сегмент и метоторакальный сегмент в своем развитии проходят мезоторакальную фазу.

$+ bxd$. Кроме того, Vxl действует как аллель и bx^1 и bxd . Так, мухи $\frac{bx + +}{+ Vxl +}$ имеют фенотип bithorax, мухи $\frac{+ Vxl +}{+ + bxd}$ фенотип bithoraxoid, а $\frac{+ Vxl +}{bx + bxd}$ фенотипически сходны с гомозиготными мухами bx , bxd . Это — эффект положения псевдоаллельного

¹ Известен также под названиями Dominant bithorax (bxD) и Ultrabithorax (Ubx).

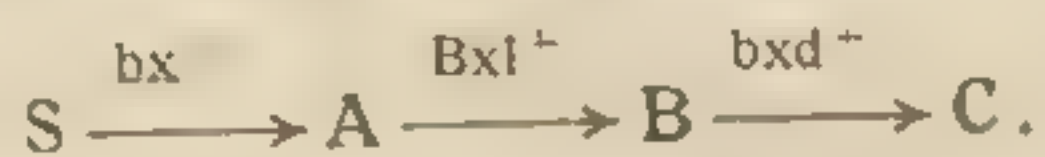
типа, поскольку
хании — $Vxl +$
Льюис [372] пр
гена расположены
они могут участво
щего типа:

Для нормального
вещества А, В и С
Предполагается, ч
ведет к появлению
С — к фенотипу
нормальных аллел
ностью или частич
ществ, что обусло
мента до уровня м
представлено в ви
действия этих тре
числе которых мо
вследствие хромос
 $Vxl+$, возникает кр
тому, это не мутац
цитологически вид
гую часть генома,
в гл. III. Таким обр
ными от $bxd+$, фун
bithorax не замеча
этих обстоятельств
висит от близости
включающим норм
участвует в вызыв
зование какого-то
достаточном коли
Если к гомозиготи
жащую bxD и Vxl

то вследствие пр
проявляет своего
смотря на отсутс
bithoraxoid. Пост
гипотетического
ролируемом гено

типа, поскольку мухи $\frac{bx \quad Vx1 \quad bxd}{+ \quad + \quad +}$ по фенотипу сходны с му-
хами $\frac{+ \quad Vx1 \quad +}{+ \quad + \quad +}$.

Льюис [372] предполагает, что, поскольку эти три неаллельные гена расположены рядом и оказывают сходное действие на фенотип, они могут участвовать в контролировании ряда реакций следующего типа:



Для нормального развития мухи необходимо, чтобы гипотетические вещества А, В и С присутствовали в определенной концентрации. Предполагается, что уменьшение концентрации веществ В или А ведет к появлению фенотипа *bithorax*, а снижение концентрации С — к фенотипу *bithoraxoid*. Далее предполагается, что мутации нормальных аллелей этих генов дают аллели *bx*, *Vx1* и *bxd*, полностью или частично блокирующие образование вышеуказанных веществ, что обуславливает развитие метоторакса и брюшного сегмента до уровня мезоторакса и, соответственно, метоторакса. Это представлено в виде схемы на фиг. 73. Схема последовательного действия этих трех генов подтверждается рядом наблюдений, в числе которых можно упомянуть тот факт, что, когда ген *bxd*⁺ вследствие хромосомной перестройки отделяется от генов *bx*⁺ и *Vx1*⁺, возникает крайне выраженный фенотип *bithoraxoid*. По-видимому, это не мутация от *bxd*⁺ к *bxd*, а эффект положения, вызванный цитологически видимым перемещением кусочка хромосомы в другую часть генома, сходный с эффектом положения, рассмотренным в гл. III. Таким образом, в то время как *bx*⁺ и *Vx1*⁺, будучи отделенными от *bxd*⁺, функционируют нормально (так как при этом эффекта *bithorax* не замечается), нормальное функционирование *bxd*⁺ при этих обстоятельствах нарушается, и, следовательно, оно прямо зависит от близости *bx*⁺ и *Vx1*⁺. Кроме того, судя по дупликациям, включающим нормальные аллели *bx* и *Vx1*, *Vx1* непосредственно не участвует в вызывании эффекта *bithoraxoid*, но контролирует образование какого-то вещества, которое должно присутствовать в достаточном количестве, чтобы ген *bxd*⁺ мог функционировать. Если к гомозиготному генотипу *Vx1* добавить дупликацию, содержащую *bx*⁺ и *Vx1*⁺, получив таким образом структуру $\frac{+ \quad Vx1 \quad +}{+ \quad Vx1 \quad +}$,

то вследствие присутствия нормального аллеля *Vx1*⁺ ген *Vx1* не проявляет своего летального действия, но фенотип таких мух, несмотря на отсутствие гена *bxd*, оказывается крайне выраженным *bithoraxoid*. Поэтому можно предположить, что для выработки гипотетического вещества С ген *bxd*⁺ нуждается в субстрате, контролируемом геном *Vx1*.

Схема последовательного действия генов согласуется со всеми приведенными выше данными о взаимоотношениях между этими генами и их аллелями (а также и другими, описанными Льюисом) при условии еще одного допущения: генные продукты А и В не способны легко распространяться от места их образования в одной хромосоме до соответствующего места в гомологичной хромосоме. Этим может объясняться эффект положения псевдоаллелей (а также и другие, описанные выше типы эффекта положения), как показано в табл. 35.

В данной таблице представлены фенотипические эффекты четырех возможных комбинаций bx^{34e} (аллель bx с фенотипически слабым мутационным эффектом), Vxl и bxd и их интерпретация с точки

Таблица 35

Фенотипический эффект различных комбинаций псевдоаллелей bx^{34e} , Vxl и bxd и их интерпретация по Льюису [372]

Генотип	Фенотип	Интерпретация этих данных на основе гипотезы о последовательном расположении и действии этих генов*
(1) $\frac{+++}{bx^{34e} Vxl bxd}$	Жужжалыцы увеличены, как у $+++$; в остальном нормальны	$\begin{array}{c} S \xrightarrow{+} A \xrightarrow{+} B \xrightarrow{+} C \\ S \xrightarrow{bx^{34e}} \ll A \xrightarrow{Vxl} \ll B \xrightarrow{bxd} \ll C \end{array}$
(2) $\frac{+ Vxl bxd}{bx^{34e} ++}$	Умеренно выраженный фенотип <i>bithorax</i>	$\begin{array}{c} S \xrightarrow{+} A \xrightarrow{Vxl} \ll B \xrightarrow{bxd} \ll C \\ S \xrightarrow{bx^{34e}} \ll A \xrightarrow{+} \ll B \xrightarrow{+} \ll C \end{array}$
(3) $\frac{++ bxd}{bx^{34e} Vxl +}$	Крайне сильно выраженный фенотип <i>bithoraxoid</i> , эффекта <i>bithorax</i> нет	$\begin{array}{c} S \xrightarrow{+} A \xrightarrow{+} B \xrightarrow{bxd} \ll C \\ S \xrightarrow{bx^{34e}} \ll A \xrightarrow{Vxl} \ll B \xrightarrow{+} \ll C \end{array}$
(4) $\frac{bx^{34e} + bxd}{+ Vxl +}$	Комбинация эффектов <i>bithorax</i> и <i>bithoraxoid</i> ; почти летальна.	$\begin{array}{c} S \xrightarrow{bx^{34e}} \ll A \xrightarrow{+} \ll B \xrightarrow{bxd} \ll C \\ S \xrightarrow{+} A \xrightarrow{Vxl} \ll B \xrightarrow{+} \ll C \end{array}$

*Значок < означает слабое, а ≪ — более резкое уменьшение количества указанных веществ.

зрения приведенной выше гипотезы. В первом примере все мутантные аллели находятся в одной хромосоме, а требуемые гипотетические вещества А, В и С вырабатываются тремя нормальными аллелями, находящимися в ее гомологе. Незначительное уменьшение количества вещества А, обусловленное присутствием b_x^{34e} и обозначенное значком $<$, и соответственно более резкое уменьшение количеств веществ В и С недостаточно велики, чтобы понизить общие концентрации до уровня, при котором возникает крайний мутантный фенотип. Лишь уменьшение количества вещества В достаточно для того, чтобы вызвать эффект. Во втором примере имеет место эффект положения, приводящий к появлению фенотипа *bithorax*, так как количество вещества В снижено вследствие блокирования его выработки аллелями b_x^{34e} и $Vx1$. Вещество А, образующееся в присутствии b_x^{34e} , не может диффундировать в соответствующую гомологичную хромосому, где оно могло бы быть превращено в дополнительное количество вещества В в присутствии $Vx1^+$. Предполагается, что указанное в таблице уменьшение количества вещества С недостаточно, чтобы вызывать появление фенотипа *bithoraxoid*. Однако в следующих двух примерах, согласно гипотезе, предполагается, что количество вещества С сильно уменьшается и возникает крайне резко выраженный фенотип *bithoraxoid*. В третьем примере количество вещества В достаточно для обеспечения развития, нормального в отношении фенотипа *bithorax*, в четвертом же примере наблюдается сильное снижение количества как В, так и С и комбинация двух мутантных эффектов.

Хотя для построения схемы, которая объяснила бы данные по генам *bithorax-bithoraxoid*, и требуется много допущений, очевидно, что все они вполне разумны, а приняв их, мы получаем рабочую гипотезу, которая может иметь существенное значение в направлении дальнейших исследований. Следует напомнить, что известен ряд ферментных систем, действующих как единицы, в которых молекулы ферментов каждого типа, по-видимому, находятся в близком соседстве с другими молекулами той же системы, как например в митохондриях. Вполне возможно, что группы близкородственных генов могут образовывать подобные ферментные системы и что изменение относительного положения генов приводит к нарушению пространственного расположения ферментов в этих системах, проявляющемуся в эффекте положения.

Известны и другие многочисленные примеры тесно сцепленных генов, изменяющих при мутировании сходные черты фенотипа. Только у дрозофилы Грюнеберг [235] и Гольдшмидт [209] насчитали около 50 таких групп, и, хотя ни одна из них не была изучена так детально, как псевдоаллели *lozenge* и *bithorax*, весьма вероятно, что многие из них представляют собой серии псевдоаллелей такого же типа, как вышеописанные. Возможные примеры псевдоаллелей были найдены у некоторых перепончатокрылых [687], *Aspergillus* [491], а также у хлопчатника [601, 602] и нейроспоры [53, 195]. Многие серии множественных аллелей могут представлять собой случаи

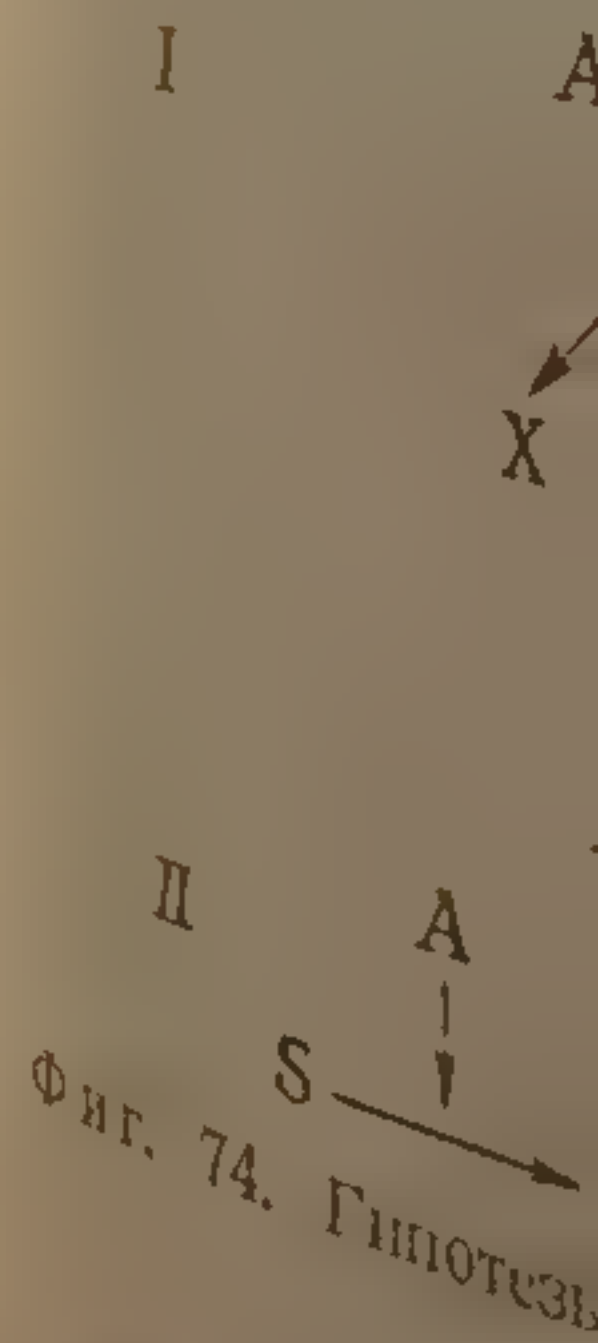
псевдоаллелизма. Действительно, теперь известно, что в серии аллелей *white*, представляющей собой классический пример серии множественных аллелей, имеются псевдоаллели. Число различных мутантных аллелей этой серии достигает 10 или более, причем *white* (*w*) действует как аморф, вовсе не вызывающий образования пигмента в глазах, а остальные аллели — как гипоморфы или антиморфы, обуславливающие образование промежуточных количеств пигмента. Было установлено, что один из промежуточных аллелей — *apricot* (*w^a* или *apr*) — дает перекрест с *w* и в настоящее время известны мухи генотипов *apr w*, *apr w⁺*, *+^{apr} w* и т. д. [373]. Другие «аллели» этой серии не были точно локализованы, но в настоящее время несомненно, что серия *white* содержит по крайней мере два локуса. Можно напомнить, что в гл. IV в качестве одного из объяснений многочисленности наследственных антигенных типов у крупного рогатого скота было предположено, что они могут частично обуславливаться сериями тесно сцепленных генов. Конечно, доказательство этой гипотезы упирается в демонстрацию наличия перекреста между предположенными генетическими единицами. Псевдоаллелизм особенно вероятен в тех сериях аллелей, описанных в разделе о фенотипическом эффекте замены аллелей, между членами которых обнаруживаются неожиданные взаимодействия в гетерозиготе, например в серии аллелей *A* у кукурузы и *ci* у дрозофилы, описанных как *антиморфы*. Действительно, Лафнан [348] получил довольно убедительные данные, говорящие о сложности локуса *A* у кукурузы. Спонтанное возникновение аллелей *A^d* из *A^b* у кукурузы связано с перекрестом у локуса *A*. Следовательно, *A^b* может состоять из двух или большего числа псевдоаллелей. Это наблюдение имеет существенное значение для объяснения действия антиморфов в данной и других подобных сериях аллелей, а для его понимания необходимо обсудить возможные причины существования псевдоаллелей и теоретические последствия их существования с эволюционной точки зрения.

По-видимому, несомненно, что физическая близость сходно действующих генов не случайна, ибо при использовании всех имеющихся данных число известных в настоящее время примеров оказывается очень большим. Поэтому естественно предположить, что псевдоаллели возникают путем дупликаций или повторений, при которых дублицированный ген остается в той же хромосоме (фиг. 74). Одним из возможных механизмов возникновения этого типа дупликаций маленьких участков хромосомы является, как показал Бриджес [72], неравный перекрест. Есть цитологические доказательства существования таких дупликаций [71, 409], и анализ хромосом клеток слюнных желез дрозофилы показывает, что группы псевдоаллелей *Star-asteroid*, *Stubble-stubbloid* и *bithorax-bithoraxoid*, по-видимому, связаны с дупликациями хромосомного материала [372].

После того как такая дупликация возникает, она может проявиться фенотипически, так как будет содержать двойную дозу дан-

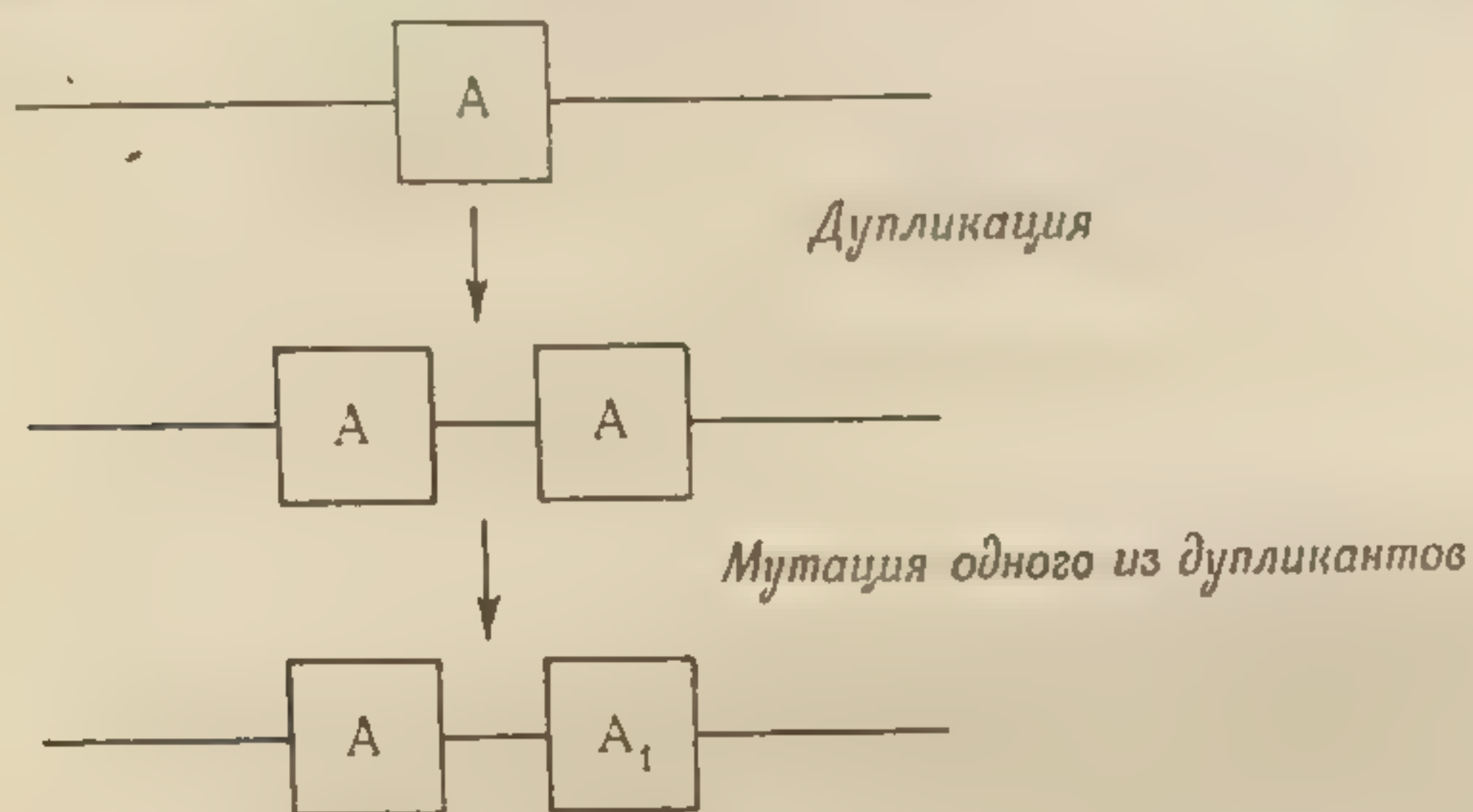
Аллели
ного гена, и дупли-
каты первоначального с
место при возникновении
один из дубликатов
который, вероятно,

Если псевдоаллели
новую функцию
альтернативно

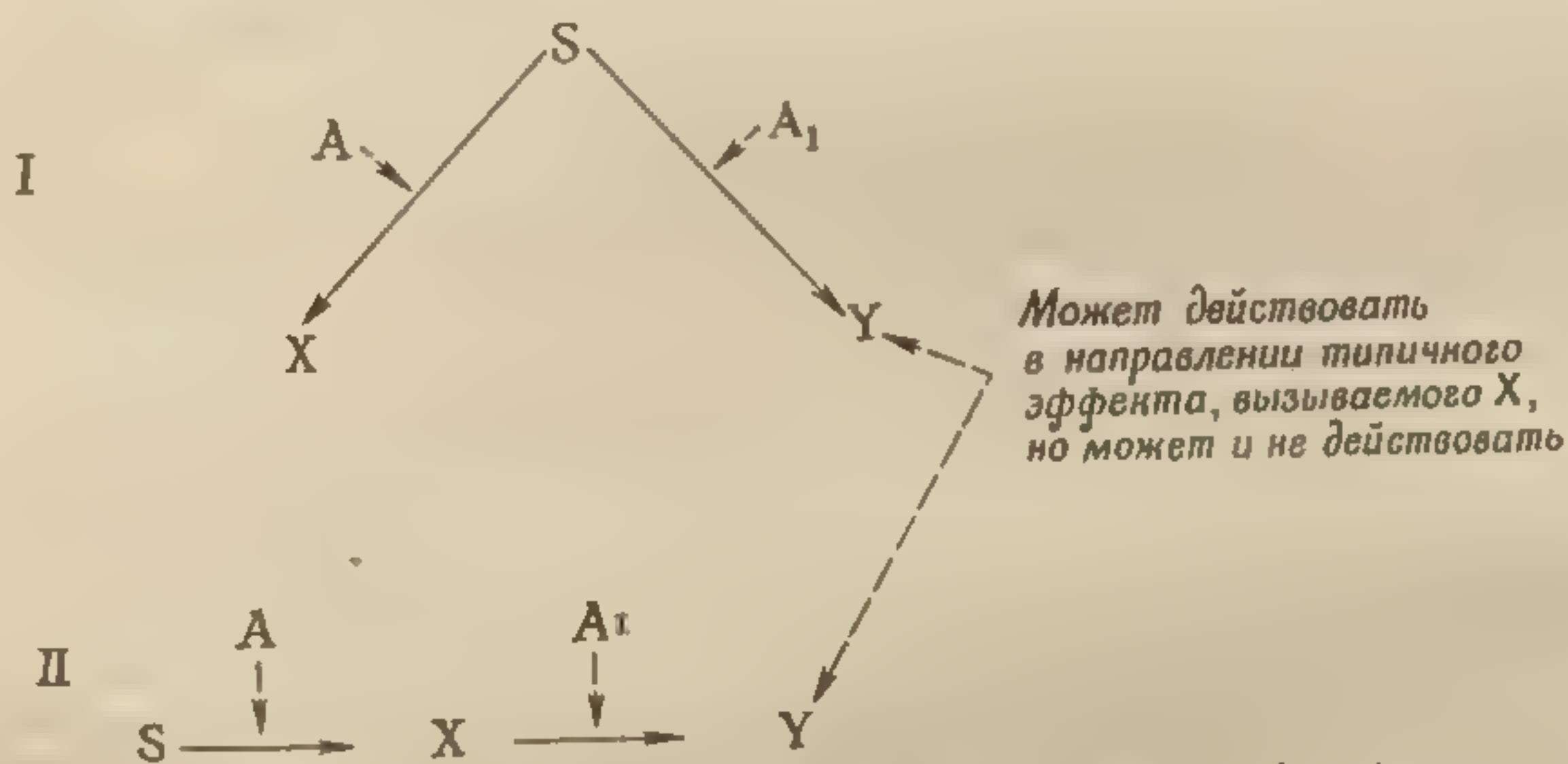


произойдет в на-
которая может бы-
Все эти данные с-
основана на предп-
к функции *A*, по-
ствующий на тот
ство. Если новое
фенотипа, обусло-

ного гена, и дубликатный ген будет наследоваться как аллель первоначального состояния. По-видимому, подобный случай имел место при возникновении мутации Bar у дрозофилы [625]. Затем один из дубликатных генов может мутировать и дать новый «аллель», который, вероятно, может действовать как антиморф, если мутация



Если псевдоаллель A_1 в результате мутации примет на себя новую функцию, близкую к функции A , то возможны две альтернативные схемы:



Фиг. 74. Гипотезы, объясняющие происхождение антиморфов (основаны на гипотезах Льюиса [372]).

произойдет в направлении приобретения геном новой функции, которая может быть связанной или несвязанной с первоначальной. Все эти данные схематически представлены на фиг. 74. Эта схема основана на предположении, что функция мутантного гена A_1 близка к функции A , поскольку он вырабатывает генный продукт, действующий на тот же субстрат S , но превращающий его в другое вещество. Если новое вещество — Y не действует в направлении развития фенотипа, обусловленного веществом X , то псевдоаллельная комби-

нация AA_1 будет действовать как антиморф в гетерозиготах с AA и исходным A , так как в этих генотипах будет наблюдаться конкуренция за наличный субстрат S . На фиг. 74 приведена также и альтернативная схема, в которой постулируется, что A_1 превращает X в новый продукт Y с новым фенотипическим эффектом, который может быть близок к фенотипическому эффекту X . Как уже указывалось, эта вторая гипотеза была использована Льюисом [372] для объяснения эффекта положения псевдоаллелей. Нетрудно видеть, что, как и в первом случае, этот вариант приводит к возникновению «аллелей», действующих в гетерозиготах необычным образом.

Эволюционные последствия возникновения дупликаций и последующей дивергенции должны быть очевидны. Мы получаем в руки рациональную гипотезу для объяснения механизма возникновения новых генов и удлинения цепей последовательных реакций, что приводит к большему многообразию процессов обмена веществ. Особенно важно в этой связи то обстоятельство, что при возникновении новых генов путем дупликаций функции одного из них могут изменяться в новом направлении, тогда как другой по-прежнему продолжает выполнять старую функцию [601].

ПЕРЕСМОТР НЕКОТОРЫХ ОПРЕДЕЛЕНИЙ

Гены определялись различным образом: 1) как единицы, неделимые при кроссинговере, 2) единицы мутирования и 3) функциональные единицы. В связи с обсуждением вопроса об аллелизме будет уместно пересмотреть эти определения, ибо, как уже отмечалось ранее, мы узнаем о гене лишь тогда, когда он существует по крайней мере в двух аллельных формах. Поэтому от того, что мы подразумеваем под термином аллель, в значительной мере зависит и то, что понимается под более широким термином ген.

До тех пор пока функциональные единицы, определявшиеся мутациями, соответствовали единицам, неделимым при кроссинговере, приведенные выше определения представляли собой точные описания явлений, наблюдавшихся в эксперименте. Однако доказательство прохождения перекреста через районы хромосом, ранее описывавшиеся как гены в связи с тем, что они удовлетворяли приведенным определениям, сделало в настоящее время необходимым более тщательное рассмотрение всей проблемы. Казалось бы, что вместо представления о гене, как о расположенном в хромосоме дискретном физическом образовании с четкими границами, его следует представлять себе 1) как «блок» образований, т. е. «субгенов» или псевдоаллелей, которые разделяются кроссинговером, или 2) как район хромосомы, не имеющий определенных границ и постепенно переходящий в следующий ген. Вероятная функциональная близость этих единиц, составляющих блоки, и их взаимозависимость в определении фенотипа хорошо подтверждаются анализом нескольких примеров псевдоаллелизма, приведенных выше.

Когда ген о
чает, что в резу
фенотипическ
о том, насколько
чаемым фенотип
ково первичное
элементарно, чт
функцию, значи
гипотезу, не под
ными данными
вестными и исп

То обстоятел
различных аллел
фенотипа, може
управлении одн
думать, что гин
развития дикого
количественно. С
фенотипическое
пигмента, не об
чественного изм
может изменить
например в конф
может измените
количественным
результатом так
приводящих к к

Не исключен
вует ряд активн
независимо друг
единица ген пре
в себе ряд спел
мутировать, одна
ница. Такая воз
экспериментальн
блюдениям Стад
локуса R контр
пигмента как в
и т. д.). Многие
лить на четыре г
ментацию зерна

R^1 — пурпур
 R^2 — пурпур
 r^1 — пурпур
 r^2 — пурпур
— анто

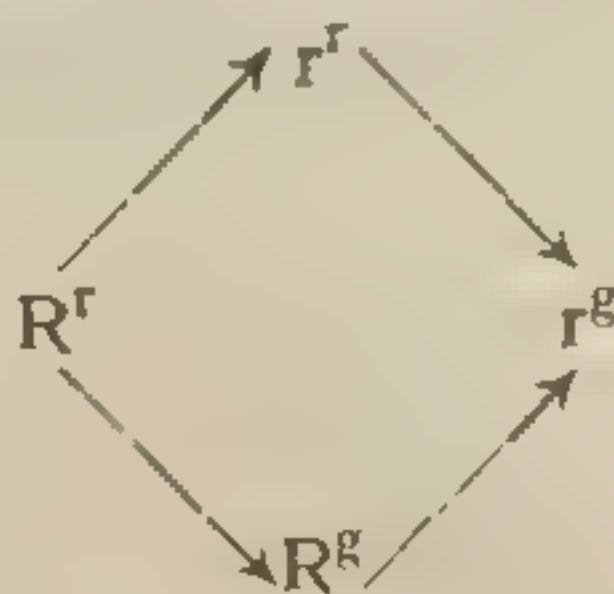
Когда ген определяют как функциональную единицу, это означает, что в результате его мутации возникает какой-то определенный фенотипический эффект, связанный с действием этого гена. Вопрос о том, насколько действие гена непосредственно связано с получаемым фенотипом, является спорным, так как никто не знает, каково первичное действие гена. Сказать, что его первичное действие элементарно, что каждый ген отправляет лишь одну первичную функцию, значило бы сформулировать простую, определенную гипотезу, не подтверждаемую и не опровергаемую экспериментальными данными и в настоящее время не поддающуюся проверке известными и испытанными методами.

То обстоятельство, что обычно, когда ген мутирует и дает ряд различных аллелей, большинство из них затрагивает ту же сторону фенотипа, может означать, что все аллельные гены участвуют в управлении одними и теми же сторонами обмена веществ. Можно думать, что гипоморфы, действующие в направлении обеспечения развития дикого типа, отличаются от аллелей дикого типа лишь количественно. Однако необходимо учитывать, что количественное фенотипическое изменение, как например изменение в количестве пигмента, не обязательно должно быть результатом простого количественного изменения в действии гена. Ген, подобно ферменту, может изменить свою активность, претерпев качественное изменение, например в конфигурации поверхности. При этом его специфичность может измениться, тогда как фенотипическое изменение будет лишь количественным. Конечно, и антиморфные эффекты могут быть результатом таких изменений специфичности, но в данном случае приводящих к качественному изменению фенотипа.

Не исключена также возможность, что в каждом гене существует ряд активных центров, которые могут изменяться (мутировать) независимо друг от друга. Это означало бы, что как мутационная единица ген представляет собой сложную единицу, заключающую в себе ряд специфических элементов, способных самостоятельно мутировать, однако в целом вся система функционирует как единица. Такая возможность возникает в связи с псевдоаллелизмом и экспериментально подтверждается наблюдениями, подобными наблюдениям Стадлера [596] над серией аллелей R у кукурузы. Аллели локуса R контролируют образование пурпурного антоцианового пигмента как в эндосперме зерен, так и в самом растении (листьях и т. д.). Многие известные в настоящее время аллели можно разделить на четыре группы в зависимости от того, влияют ли они на пигментацию зерна или растения или их обоих:

- R^r — пурпурные зерна, пурпурное растение,
- R^g — пурпурные зерна,
- r^r — пурпурное растение,
- r^g — антоциана нет ни в зернах, ни в растении.

В очень обширной серии экспериментов Стадлер [596] показал, что три из этих аллелей мутируют спонтанно с частотой, зависящей от остального генотипа (см. стр. 56), согласно следующей схеме:



Мутации от R^r к r^r (пигментировано только растение) и к R^g (пигментированы только зерна) происходят независимо друг от друга. Поэтому создается впечатление, что ген R^r состоит из двух элементов, до некоторой степени независимо действующих и независимо мутирующих. Поскольку перекрест между этими элементами не наблюдался, об их отношении друг к другу сказать ничего нельзя; можно лишь предположить, что R — «сложный» ген [596], состоящий из двух родственных элементов. Подобное заключение, однако, ясно показывает, что определение гена как мутационной единицы туманно и значение его необходимо уточнить.

ВЗАИМО

В тех случаях, дование какого-ли числа генов, фен положение справе лельны данные ге мы уже рассмотре ных генов и диагн фикации различны

Для того чтобы признака, обуслов факториальное на или большим числ наследование), не опытов скрещиван следование белогл aster, не расщепл белоглазой линии с заведомо гомозигот тающееся при этом следует, что мутан мальному. После F_2 определяют чи следующим: 9 м красными глазами ожидаемому при показывает, что в временным присут верочные скрещи известного геноти мутантные гены. (st) и brown (bw). мулу белоглазой скрещивания соо фиг. 75.

Глава X

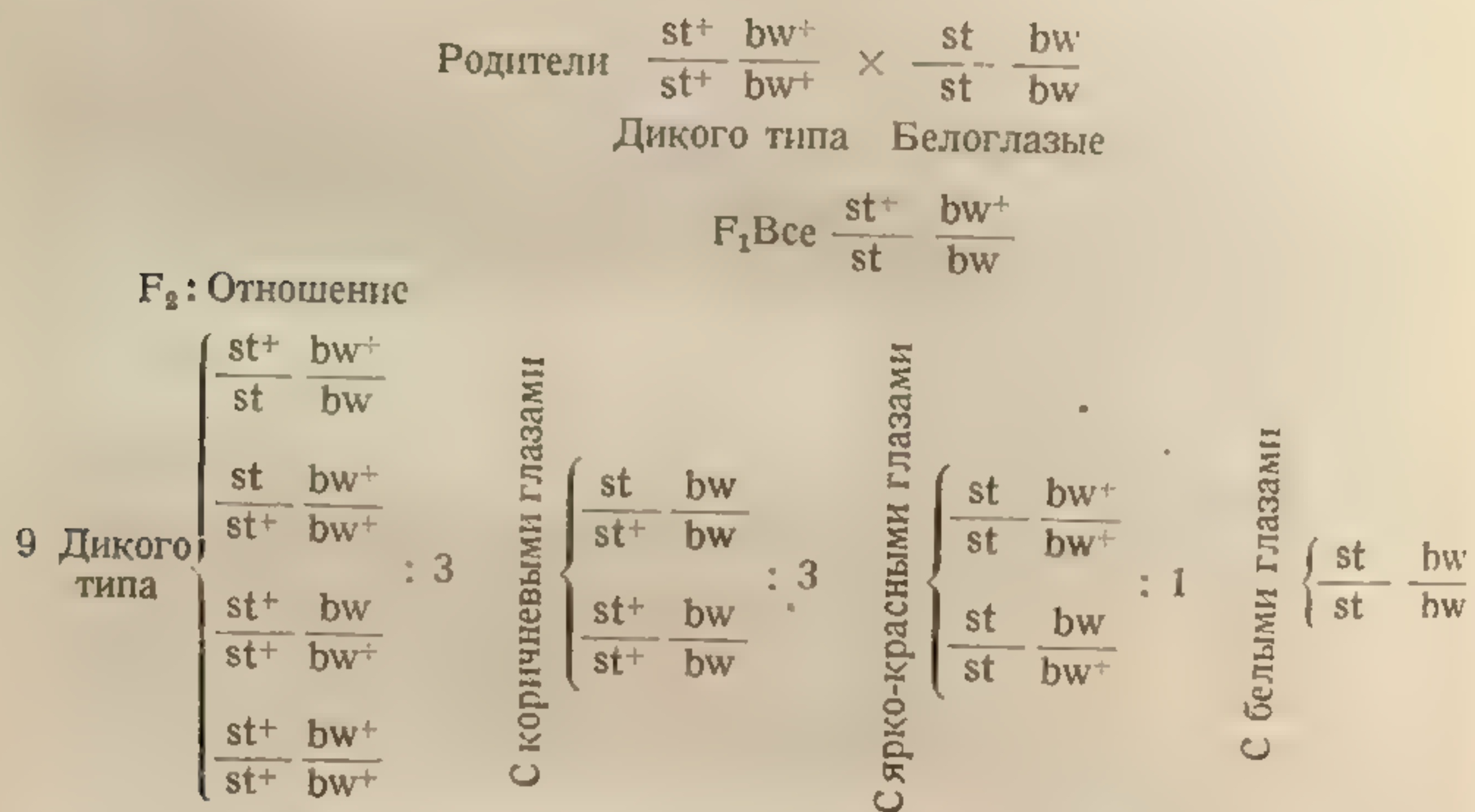
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НЕАЛЛЕЛЬНЫХ ГЕНОВ

В тех случаях, когда опыты скрещивания показывают, что наследование какого-либо признака зависит не от одного, а от большего числа генов, фенотип определяется взаимодействием генов. Это положение справедливо независимо от того, аллельны или неаллельны данные гены. Поскольку взаимодействие аллельных генов мы уже рассмотрели, обратимся теперь к взаимодействию неаллельных генов и диагностическим методам, используемым для идентификации различных типов взаимодействия.

Для того чтобы представить себе разницу между наследованием признака, обусловленного одним геном или парой аллелей (монофакториальное наследование), и признака, обусловленного двумя или большим числом неаллельных генов (бифакториальное и т. д. наследование), необходимо подробно разобрать некоторые типы опытов скрещивания и их последствия. Рассмотрим, например, наследование белоглазости в некоторых линиях *Drosophila melanogaster*, не расщепляющихся по этому признаку. Мух из мутантной белоглазой линии скрещивают обычным путем с линией дикого типа, заведомо гомозиготной по нормальной красной окраске глаз. Получающееся при этом F_1 состоит только из красноглазых мух, откуда следует, что мутантный признак рецессивен по отношению к нормальному. После этого гибриды F_1 скрещивают между собой и в F_2 определяют численное отношение фенотипов. Оно оказывается следующим: 9 мух дикого типа : 3 коричневоглазых : 3 с ярко-красными глазами : 1 белоглазая, т. е. соответствует отношению, ожидаемому при независимом расщеплении двух пар генов; оно показывает, что в данном случае белоглазость определяется одновременным присутствием двух мутантных генов. Дальнейшие проверочные скрещивания мутантных типов с мутантными линиями известного генотипа дают возможность идентифицировать данные мутантные гены. Предположим, что в данном случае это scarlet (st) и brown (bw). Тогда мы сможем написать генотипическую формулу белоглазой линии как st/st, bw/bw и изобразить проверочные скрещивания соответствующими символами, как это сделано на фиг. 75.

Как уже было отмечено выше (стр. 221), ген st блокирует образование бурого пигмента, имеющегося в нормально окрашенном

глазу. Известно также, что ген *bw* блокирует образование красного и желтого пигментов, которые вместе с бурым пигментом сообщают глазу мухи дикого типа нормальную пигментацию. Благодаря этим сведениям результаты расщепления в F_2 становятся понятными. Мухи дикого типа содержат оба компонента системы пигментов вследствие наличия у них *st*⁺ и *bw*⁺, коричневоглазые мухи имеют *st*⁺ *bw*, а мухи с ярко-красными глазами — *st* *bw*. Мухи *st* *bw*, у которых не образуется ни того, ни другого пигмента, оказываются белоглазыми.



Ф и г. 75. Бифакториальное наследование признака белоглазости у *Drosophila melanogaster*.

Если бы *bw* и *st* были тесно сцеплены, а не локализованы в двух разных хромосомах (II и III соответственно), то расщепление в F_2 было бы иным. Численность особей в рекомбинационных классах *st* *bw*⁺ и *st*⁺ *bw* была бы пропорционально меньшей, и отношение приближалось бы к 3:1, характерному для монофакториального наследования. Чем теснее сцеплены гены, тем ближе было бы отношение к 3:1. При полном сцеплении, т. е. при отсутствии перекреста между *st* и *bw*, расщепление превратилось бы в простое 3:1 и мы сделали бы вывод, что белоглазость обусловлена лишь одним геном. Так, в другом случае, если бы мы проверяли белозглазую линию генотипа *w/w* (см. стр. 233), мы получили бы в F_2 следующее отношение: 3 мухи дикого типа: 1 белоглазая, и в потомстве не было бы особей с промежуточной окраской глаз. Полные генотипические формулы двух белоглазых линий следовало бы написать так:

так: $\frac{w \quad st^+ \quad bw^+}{w \quad st^+ \quad bw^+}$ — линия с монофакториальным наследованием,
 $\frac{w^+ \quad st \quad bw}{w^+ \quad st \quad bw}$ — линия с бифакториальным наследованием. Однако

ради краткости. В
 мутантных генов, п
 Было установ
 собные диффузир
 Поскольку ген whi
 ного пигмента, а ге
 нента, то, учитывая

Бурый

3-CH-K

Кинуре

Формилки

Трипто

Ф и г. 76. Предполага

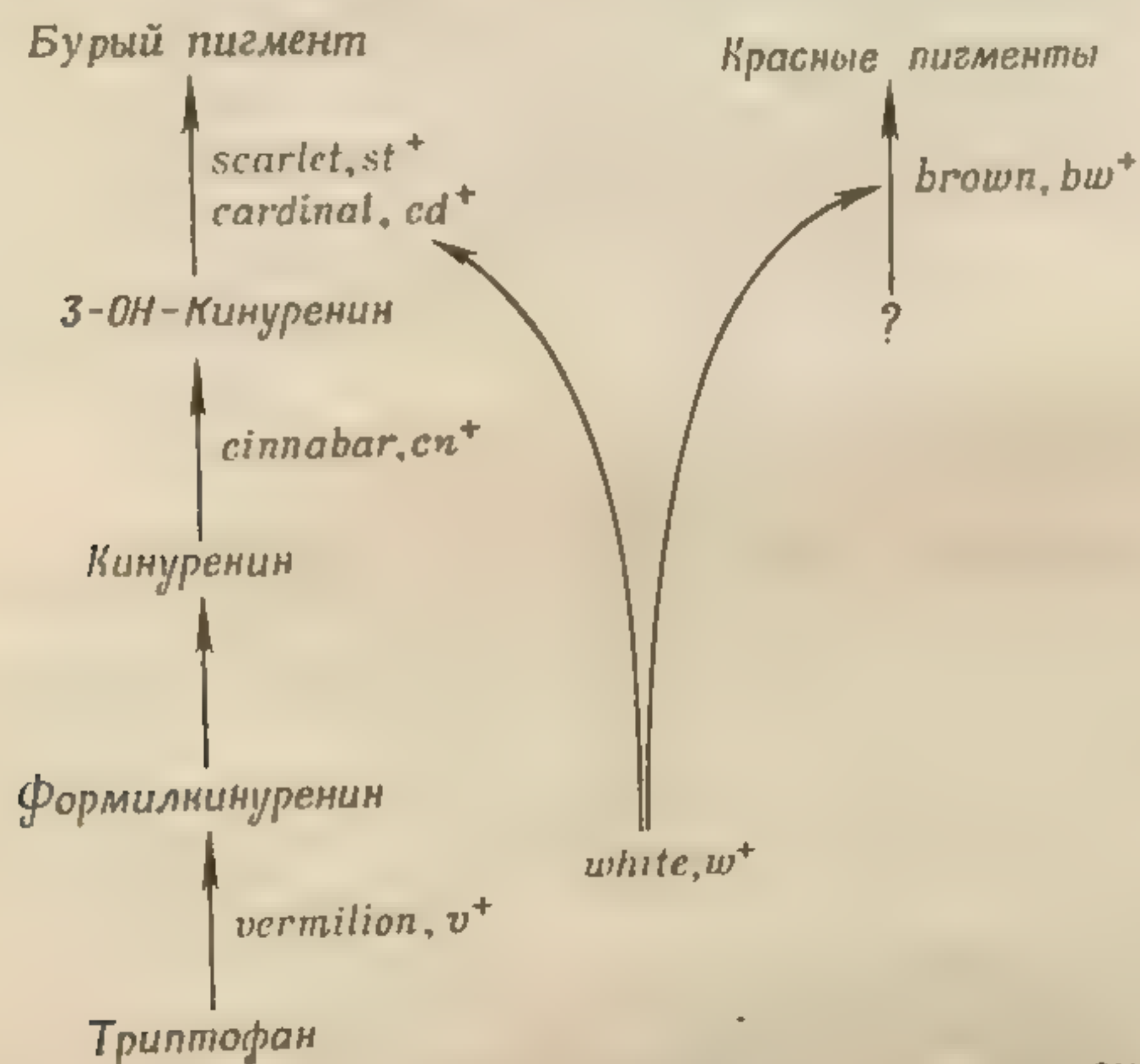
можно построить м
 мента у дрозофилы
 кими генами, по-ви
 взаимодействия ген

По существу та
 примере *st*, *bw* у дро
 монофакториальное
 вроде нейроспоры, и
 лемы гетерозиготно
 гена доминантным, т
 более простыми. Ес
 пределах одной пар
 линии с линией ди

1:1. Если же при
 наблюдать отклон
 меры подобных отк
 Говоря о взаимо
 что сами гены

ради краткости, в генотипических формулах пишут лишь символы мутантных генов, предполагая, что остальной генотип дикого типа.

Было установлено, что у мутантов w/w и bw/bw образуются способные диффундировать предшественники бурого пигмента [30]. Поскольку ген *white* блокирует образование обоих компонентов глазного пигмента, а ген *brown* — только образование красного компонента, то, учитывая это, а также данные, приведенные на стр. 221,



Ф и г. 76. Предполагаемые взаимоотношения между генами окраски глаз у *Drosophila melanogaster*.

можно построить метаболическую схему образования глазного пигмента у дрозофилы (фиг. 76). Эти взаимоотношения между несколькими генами, по-видимому, служат одним из лучших примеров взаимодействия генов.

По существу та же методика скрещиваний, которая описана на примере *st, bw* у дрозофилы, используется для того, чтобы отличить монофакториальное наследование от бифакториального у гаплоидов вроде нейроспоры, но поскольку в этом случае не возникает проблемы гетерозиготности и маскировки проявления рецессивного гена доминантным, то проверочные скрещивания оказываются даже более простыми. Если мутантный признак обусловлен различием в пределах одной пары аллелей, то после скрещивания мутантной линии с линией дикого типа в F_1 должно получиться отношение 1 : 1. Если же признак обусловлен двумя генами и т. д., то будут наблюдаться отклонения от этого отношения, например 3 : 1. Примеры подобных отклонений рассмотрены в следующих разделах.

Говоря о взаимодействии генов, мы отнюдь не подразумеваем, что сами гены или даже их первичные продукты обязательно взаи-

модействуют друг с другом, а лишь констатируем, что в обширной неисследованной области между генами и фенотипом происходит какое-то взаимодействие, являющееся, по-видимому, отражением активности двух или большего числа известных генов. В приведенном выше примере было показано, что гены bw^+ и st^- взаимодействуют, так как каждый из их рецессивных аллелей bw и st блокирует процесс образования одного из компонентов, необходимых для развития красного глаза дикого типа. В данном случае взаимодействие является результатом выработки двух пигментов, которые, смешиваясь, дают характерную для дикого типа красную окраску глаз. Однако в отношении своей внутриклеточной активности, связанной с регуляцией процессов образования этих двух компонентов глазного пигмента, гены bw^+ и st^- могут быть совершенно независимы друг от друга. Конечно, не все примеры взаимодействия генов столь же легко поддаются анализу, как этот, ибо лишь в очень немногих случаях нам известно так много о химии фенотипа.

ПРИЗНАКИ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ДВУМЯ ГЕНАМИ

В табл. 36 приведен ряд типов наследования признаков, обусловленных двумя генами, и характеризующие их фенотипические отношения в F_2 . Отношения эти определяют тем же способом, что и в приведенном выше примере с генами st и bw . Предполагается, что отдельные пары генов расщепляются независимо друг от друга и приведенные в табл. 36 отношения справедливы лишь при этом условии. Если, как это часто бывает, взаимодействующие гены сцеплены, то численные отношения зависят от частоты рекомбинации, обусловленной перекрестом.

Дополнительные (комплементарные) гены

Один из наиболее распространенных типов взаимодействия генов связан с наличием неаллельных генов, обуславливающих один и тот же мутантный фенотип. Они называются дополнительными или миметическими генами. Дикий тип, или стандартный фенотип, может развиваться лишь при условии, что все дополнительные гены будут представлены своими доминантными аллелями дикого типа: если это условие не будет соблюдено в отношении хотя бы одного из них — возникнет мутантный фенотип. Много примеров этого типа взаимодействия уже было проведено: вспомним гены v , cn , st и cd у дрозофилы, различные группы генов, обуславливающих потребность в одном и том же веществе у нейроспоры, и многие гены, связанные с выработкой антоциановых и антоксантиновых пигментов у растений.

Два независимо расщепляющихся дополнительных гена дадут фенотипическое отношение 9 особей дикого типа к 7 мутантным, если только, как в описанном выше случае для st и bw , простые рецесивы не окажутся фенотипически отличимыми друг от друга и от

двойного рецессива
У гаплоидов
двумя фенотипическими
различиями
на особей

Отношения, описывающие
признаков, с

Тип в

Дополнительные (комплементарные)
гены

Дубликатные гены

Супрессоры (подавляющие)
Рецессивный су-
мутантного

Доминантный
мутантного м

Рецессивный
мутантного м

Доминантный
сивного му

*а и b — рецессивные аллели; С и D — доминантные аллели.

Биохимическое заключение
обычно заключает в себе
важные реакции, которые
может быть по-разному
аллелей в особ

где вещество
Если бы вследствие
ства Р было бы
накоплено во многих
объяснения, н

двойного рецессива, в результате чего возникнет отношение 9 : 3 : 3 : 1. У гаплоидов вроде нейроспоры в результате скрещивания между двумя фенотипически сходными мутантными штаммами, обладающими различными мутантными генами, будет наблюдаться расщепление на особей дикого типа и мутантных особей в отношении 1 : 3.

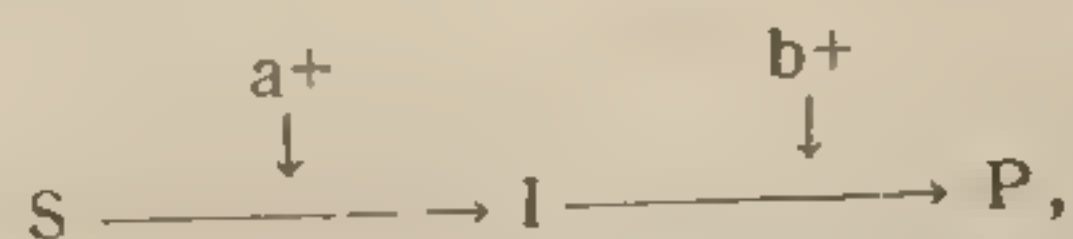
Таблица 36

Отношения, ожидаемые в F_2 у диплоидов, при различных типах наследования признаков, обусловленных двумя генами, при условии независимого распределения

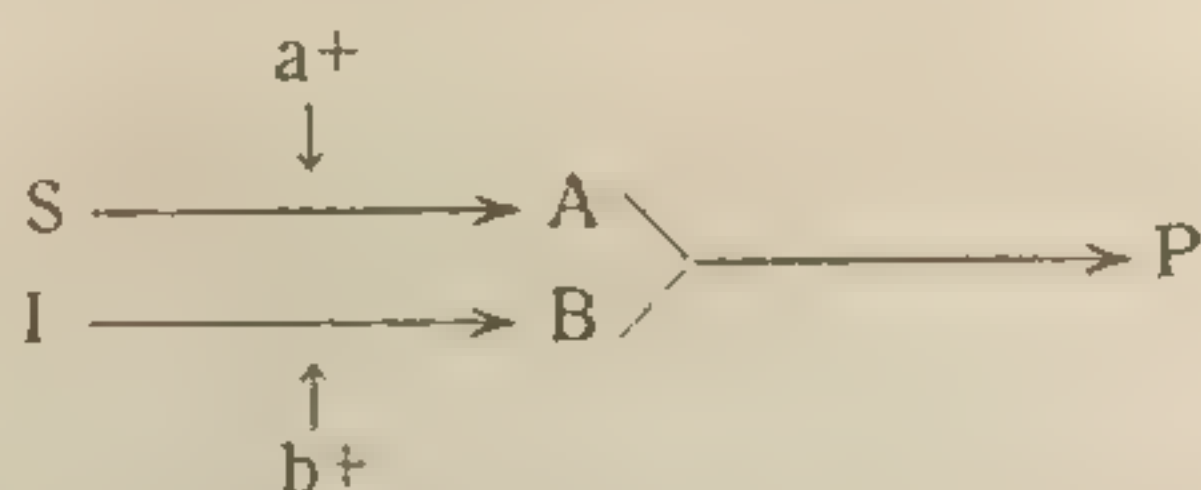
Тип взаимодействия	Стандартный или дикий тип*	Мутант*	Отношение
Дополнительные (комплементарные) гены	a^+b^+	ab $a+b$ ab^+ ab	9:7
Дубликатные гены	a^+b^+ a^+b $a b^+$	ab	15:1
Супрессоры (подавители)			
Рецессивный супрессор рецессивного мутантного гена	ab b — супрессор $a+b$ a^+b^+	ab^+	13:3
Доминантный супрессор доминантного мутантного гена	CD D — супрессор C^+D C^+D^+	CD^+	13:3
Рецессивный супрессор доминантного мутантного гена	Cb b — супрессор C^+b C^+b^+	Cb^+	7:9
Доминантный супрессор рецессивного мутантного гена	aD D — супрессор a^+D a^+D^+	aD^+	15:1

* a и b — рецессивные мутантные гены; a^+ и b^+ — соответствующие нормальные аллели; C и D — доминантные мутантные гены; C^+ и D^+ — соответствующие рецессивные нормальные аллели.

Биохимическое объяснение действия дополнительных генов обычно заключается в том, что они оказывают влияние на последовательные реакции. Так, если a и b — дополнительные гены, то может быть построена следующая модель действия их нормальных аллелей в особях дикого типа:



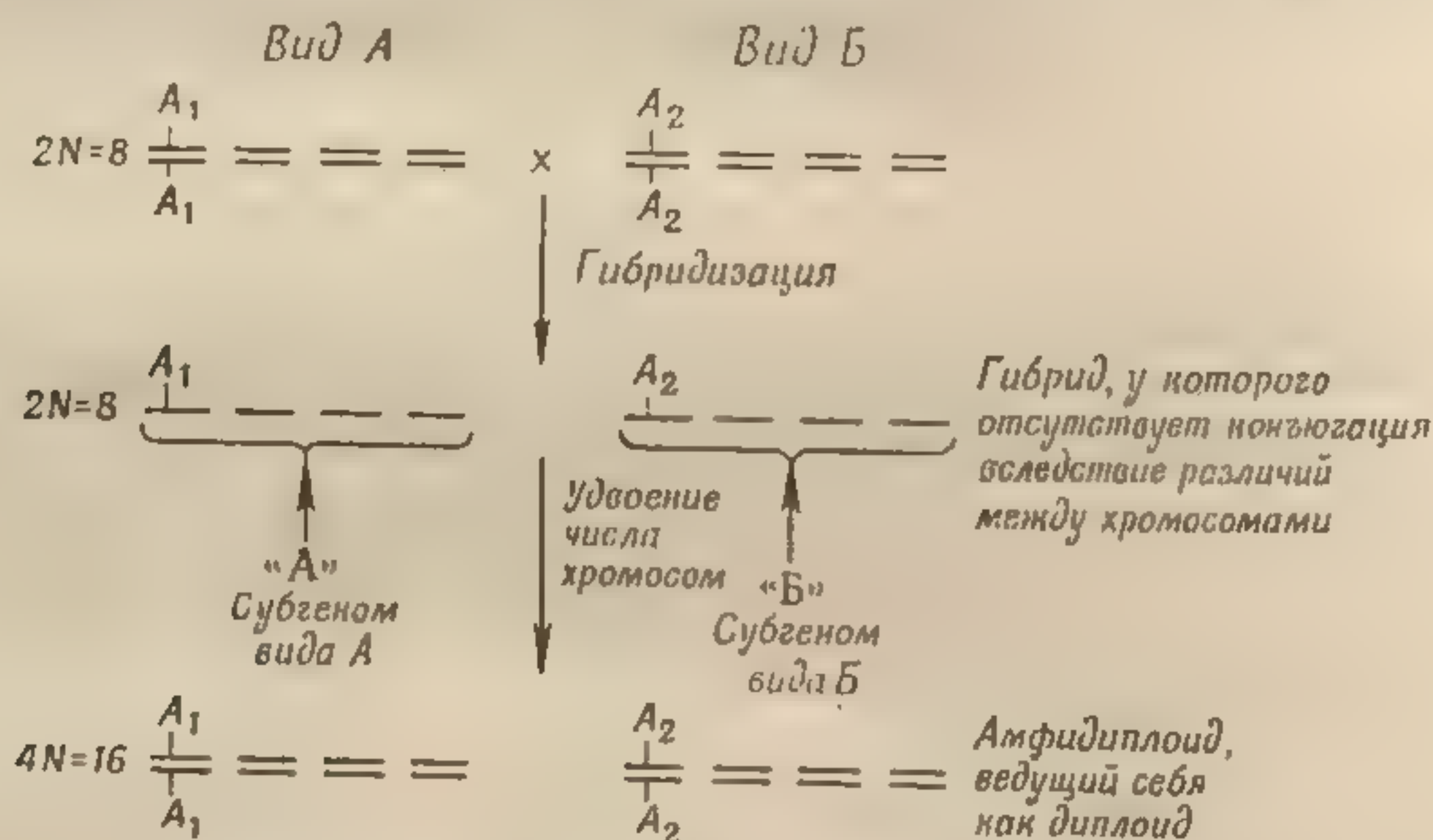
где вещество P необходимо для развития нормального фенотипа. Если бы вследствие наличия a , b или их обоих образование вещества P было блокировано, то возник бы мутантный фенотип. Однако во многих случаях могут быть предложены и альтернативные объяснения, например:



и необходимо иметь в виду, что все эти модели, как и приведенные ниже, имеют лишь познавательное значение.

Дубликатные гены

Дубликатные гены были обнаружены у ряда растений. Это — рецессивные неаллельные гены, которые, присутствуя одновременно в гомозиготном состоянии, обуславливают мутантный фенотип,



Фиг. 77. Возникновение амфидиплоида (тетраплоида) в результате гибридизации и удвоения числа хромосом.

A_1 и A_2 — гены с идентичными функциями. Если они существуют в виде аморфов, то в амфидиплоиде признак обнаружится только при генотипе $\frac{a_1 a_2}{a_1 a_2}$.

зависящий от двух генов. Дубликатные гены известны у кукурузы, в особенности среди генов, влияющих на образование хлорофилла, [160], у табака [110] и пшеницы [555]. О наследовании, обусловленном независимо распределяющимися дубликатными генами, судят по расщеплению в F_2 на нормальные и мутантные особи в отношении 15:1.

То обстоятельство, что дубликатные, триплекатные и даже квадриплекатные гены довольно обычны у растений, объясняется, вероятно, тем, что многие растения, в особенности культурные, чаще всего используемые в генетических экспериментах, являются гибридными полиплоидами (см. фиг. 5). Можно ожидать, что у растений, происходящих от полиплоидов, число генов, выполняющих сходные функции, должно быть удвоенным, поскольку, как показано на фиг. 77, каждый родитель вносит один из двух дубликатных

наборов. Таким образом, необходимость наличия двух мутантных генов для возникновения мутантного фенотипа представляет собой скорее пример не взаимодействия генов, а удвоения их активности. У животных полиплоидия — явление редкое, видимо, не игравшее сколько-нибудь существенной роли в эволюции, а потому не удивительно, что дубликатные гены этого типа среди животных практически неизвестны.

Хотя наследование, связанное с дубликатными генами, строго говоря, не может служить примером взаимодействия генов, очевидно, что взаимодействующие гены со сходными функциями могли произойти в процессе эволюции от дубликатных генов [601, 602]. Например, среди различных культивируемых видов хлопчатника, являющихся амфидиплоидами, известен целый ряд случаев своеобразного наследования мутантных признаков, лучше всего объяснимого на основе предположения о дивергенции функций первоначально дубликатных генов.

В каждом из двух амфидиплоидных видов хлопчатника, *Gossypium hirsutum* и *G. barbadense*, встречается мутантный фенотип, наследуемый монофакториально и выражающийся в укорочении ветвей, несущих цветки, вследствие чего возникают цветочные кисти. У *G. hirsutum* этот мутант называется cluster, а у *G. barbadense* — short branch. Цитологически *G. hirsutum* и *G. barbadense* сходны. По-видимому, оба они возникли в результате скрещивания диплоидного вида, имеющего 13 пар хромосом типа «D», с диплоидным видом, имеющим 13 пар хромосом типа A [598, 601]. Следовательно, амфидиплоид имеет хромосомное строение $26 A + 26 D$ и можно было бы ожидать, что он содержит целый ряд дубликатных генов. Это предположение частично подтверждается наличием мутантного гена cluster в хромосомном наборе, или субгеноме D у *G. hirsutum* и short branch в субгеноме A у *G. barbadense*. Однако предположение, что cluster, cl_1 , является истинным дубликатным геном по отношению к short branch, cl_2 , поскольку они обуславливают сходный фенотип, не подтверждается результатами опытов скрещивания. Если cluster *G. hirsutum*, $cl_1 cl_1$, скрестить с short branch *G. barbadense*, $cl_2 cl_2$, то все F_1 будет нормальным [563], хотя, если бы эти гены были дубликатными, следовало бы ожидать, что появятся только мутанты. Эти результаты проще всего объяснить, предположив, что cluster имеет генотип $cl_1 cl_1 Cl_2 Cl_2$, а short branch — $Cl_1 Cl_1 cl_2 cl_2$ и что нормальный фенотип бывает лишь при генотипе $Cl_1 Cl_1 Cl_2 Cl_2$ (или $Cl_1 cl_1 Cl_2 cl_2$). Следовательно, несмотря на то, что cl_1 и cl_2 , по-видимому, возникли как дубликатные гены вследствие амфидиплоидии, их нормальные аллели не действуют как дубликатные гены. Как отметил Стефенс [602], cl_1 и cl_2 действуют как дополнительные гены, обуславливающие один и тот же фенотип в тех случаях, когда один из них представлен рецессивными аллелями, а другой — доминантными. Отсюда можно сделать вывод, что, хотя функции их и были первоначально одинаковы, они в процессе эволюции дивергировали примерно так же, как это было допущено в

гл. VIII для псевдоаллелей, так что теперь для обеспечения нормального фенотипа необходимы оба нормальных аллеля. Стефенс [602] предложил схему, иллюстрирующую механизм этого взаимодействия; дальнейшие подробности читатель может найти в этой работе.

Из всего сказанного, а также из обсуждения проблемы псевдоаллелизма очевидно, что имеются указания по крайней мере на два способа происхождения новых генов: 1) путем дивергенции дупликаций, расположенных «гуськом» в одной и той же хромосоме, и 2) путем дивергенции дубликатных генов, возникающих вследствие гибридизации. Следует подчеркнуть, что ни в одном из числа изученных примеров не получено доказательства дивергенции тем или другим из этих путей. Между тем вполне вероятно, что представление о возможности существования подобного механизма и изучение биохимических взаимоотношений генов, имеющих, по-видимому, общее происхождение, могут привести к лучшему пониманию действия генов и их взаимодействия в процессах метаболизма, ибо современные генотипы представляют собой результат эволюционного развития.

Гены-супрессоры

Генетик, работающий с гомозиготными или гомокариотическими мутантными линиями, иногда бывает удивлен появлением нормальных фенотипов в предположительно нерасщепляющихся популяциях. Иногда можно показать, что эти «реверсии» к дикому типу обусловлены обратными мутациями, но часто они бывают результатом мутации в другом локусе, возвращающей мутантный фенотип к дикому типу. Гены, обуславливающие развитие нормального фенотипа, несмотря на присутствие неаллельного им мутантного гена, называются *супрессорами*. Супрессор может не оказывать никакого заметного действия, кроме полного или частичного подавления мутантного фенотипа, но может вызывать и собственный мутантный эффект. Известно много примеров супрессоров, и будет полезно рассмотреть некоторые из них более подробно.

В табл. 37 приведены некоторые супрессоры, найденные у *Drosophila melanogaster*. Нетрудно видеть, что супрессор может быть доминантным (Su-S и Su-ss) или рецессивным, как su-s, подавляющий sable, и что он может подавлять мутантный фенотип, обусловленный доминантным (Su-S и su²-Hw) или рецессивным геном. Некоторые из этих супрессоров, в особенности su²-Hw, su³-s и su²-v pr, очевидно, не очень специфичны в отношении подавляемого признака. О степени специфичности других судить трудно, так как из их описаний не всегда ясно, было ли изучено их взаимодействие с другими мутантными генами. Su²-Hw, в остальном неспецифичный, обнаруживает своеобразную специфичность в отношении серии аллелей scute, так как не подавляет ни одного аллеля из этой серии, за исключением scute-1 (sc¹). Сходную специфичность он обнаружи-

иет и в отношении с
и yellow. Супрессоры
ного эффекта. Вслед-
бинации с подавля-
purple (su³-pr) и Hai
изменение внешне на-
ими фенотипу, а Su-S
фенотип, а в гомозиг-

Некоторые из су

Символ супрессора

su²-Hw

su³-pr

Su-S

su²-s

su³-s

Su²-v pr

Su-S

Su-ss

* Аллели или псевдо-
и обозначают su-v.

У нейроспоры о
нию потребности в
[195, 197], ацетате
фене и близких к не
в них мутантов.

Супрессор некот
в пиримидине и пр
казано его взаим
В табл. 38 сведены
себе не оказывает за-
бинации с одним из
рго 3, он приводит
требностей, характер
оказываются спосо

ваит и в отношении серий аллелей cut, bithorax, cubitus interruptus и yellow. Супрессоры sable и vermillion не имеют собственного видимого эффекта, вследствие чего их можно обнаружить лишь в комбинации с подавляемыми ими мутантными генами. Супрессоры purple (su^B -pr) и Hairy wing сами по себе изменяют фенотип, но это изменение внешне не имеет никакого отношения к подавляемому ими фенотипу, а Su-S и Su-ss в гетерозиготном состоянии не изменяют фенотип, а в гомозиготном — летальны.

Таблица 37

Некоторые из супрессоров, найденных у *Drosophila melanogaster*

Символ супрессора	Подавляемый признак	Литература
su^2 -Hw	Hairy wing (Hw) Scute-1 (sc^1) Cut-6 (ct^6) Forked (f) Bithorax-3 (bx^3) Bithoraxoid (bxd) Cubitus interruptus (ci) Желтый цвет крыльев y^2	[370]
su^B -pr	Purple (pr)	[551]
su -s	Sable (s) и vermillion (v)	[551]
su^2 -s	Vermilion (v) и sable (s)	
su^3 -s	Speck (sp), sable и vermillion	
su^S -v pr	Vermilion (v) и purple (pr)	[74]
Su-S	Star (S)	[438]
Su-ss	Spineless (ss)	[439]

*Аллели или псевдоаллели (см. текст). Их называют также супрессорами vermillion и обозначают su-v.

У нейроспоры описаны супрессоры, приводящие к исчезновению потребности в пиримидине, пролине [425], метионине, инозите [195, 197], ацетате [361, 621], пантотеновой кислоте [674], триптофане и близких к нему веществах [263, 715] у ранее нуждавшихся в них мутантов.

Супрессор некоторых мутаций, обуславливающих потребность в пиримидине и пролине (su -prg), особенно интересен, поскольку доказано его взаимодействие с целым рядом неаллельных генов. В табл. 38 сведены данные по влиянию этого гена, который сам по себе не оказывает заметного влияния на фенотип. Находясь в комбинации с одним из трех неаллельных генов — prg 3a, prg 2 или prg 3, он приводит к полному исчезновению специфических потребностей, характеризующих эти мутанты, так что двойные мутанты оказываются способными расти на минимальной среде. Потреб-

ность в пролине подавляется полностью, и двойной мутант во всех других отношениях фенотипически не отличается от дикого типа. Однако двойной мутант *pyr 3a, su-pyr* не идентичен дикому типу, так как, хотя он и растет на минимальной среде, но его подавляют вещества, указанные в табл. 38. Эти вещества не подавляют сколько-нибудь существенно рост штамма дикого типа. Такое же подавление и его снятие лизином наблюдаются у тройного мутанта *pyr 3a, prol 2, su-pyr*.

Таблица 38

Влияние *su-pyr* в комбинации с некоторыми мутациями, обуславливающими потребность в пиримидине и пролине [425]

Подавляемые мутанты	Признаки и потребности самого мутанта	Признаки и потребности мутанта в комбинации с <i>su-pyr</i>
37801 (<i>pyr 3a</i>)	На минимальной среде не растет; нуждается в пиримидине	Растет на минимальной среде как дикий тип, но подавляется орнитином, пролином, цитруллином и аргинином. Подавление этими веществами полностью снимается лизином
35401 (<i>prol 2</i>) 44207 (<i>prol 3</i>)	Слабо растет на минимальной среде; стимулируется пролином, орнитином, цитруллином и аргинином	Фенотипически идентичен дикому типу
<i>pyr 3a, prol 2</i> <i>pyr 3a, prol 3</i>	На минимальной среде не растет; нуждается в пиримидине + пролин, орнитин, цитруллин или аргинин	Подобно <i>pyr 3a, su-pyr</i> растет на минимальной среде, но подавляется теми же соединениями; подавление снимается лизином

Этот ген-супрессор обладает и другими особенностями. Он не действует на нуждающиеся в пиримидине мутанты, на не аллельных *pyr 3a*, а также на нуждающийся в пролине мутант 21863, нуждающийся лишь в пролине и не аллельный мутантам *prol 2* и *prol 3*. Кроме того, находясь в некоторых мутантах, нуждающихся в орнитине, цитруллине, аргинине и лизине, он изменяет фенотип этих мутантов. Например, двойной мутант *su-pyr, orn 3*, представляющий собой комбинацию супрессора и нуждающегося в орнитине мутанта 34105 (*orn 3*), обнаруживает лишь следы роста на минимальной среде и сильно стимулируется цитруллином и аргинином. Мутант *orn 3* сам по себе растет на минимальной среде значительно лучше, чем в комбинации с *su-pyr*, и рост его стимулируется не только цитруллином и аргинином, но и орнитином. Таким образом, *su-pyr* препятствует использованию орнитина мутантом, синтез у которого, по-видимому, блокирован перед орнитином. Это равносильно сдвигу генетического блока с одного звена синтеза на другое, так как у

двойного мутанта синтез, по-видимому, блокирован между орнитинном и цитруллином. Сходный сдвиг, по-видимому, существующего генетического блока вызывает *su-ryr* в комбинации с нуждающимся в лизине штаммом 33933 (*lys 1*). Сам по себе *lys 1* стимулируется α -аминоадипиновой кислотой, но двойной мутант *su-ryr, lys 1* реагирует только на лизин, если только не добавить в среду аргинин, цитруллин или орнитин.

Явлениями подавления можно объяснить многие случаи взаимодействия генов, имеющих отношение к наследованию антоциановых пигментов у растений. Один из наиболее замечательных примеров этого связан с действием гена *dazzler* (*Dz*) у *Primula sinensis* [554]. Цветки примулы в присутствии гена *K* содержат только мальвидин. Цветки растений, гомозиготных по рецессивному аллелю *k*, содержат только пеларгонидин. Однако если одновременно с геном *K* присутствует и ген *Dz*, то образуется пеларгонидин: небольшое его количество в растениях *Dz dz, K* и более значительное в смеси с мальвидином в растениях *Dz Dz K*. Следовательно, *Dz* является неполным супрессором *K*.

Численные соотношения в F_2 от скрещиваний, в которых участвуют супрессоры и подавляемые ими гены, зависят от характера и наличия или отсутствия доминирования. Если допустить, что супрессор сам по себе не оказывает заметного фенотипического действия, или пренебречь этим действием, то можно ожидать три различных типа соотношений, приведенные в табл. 36. Некоторые из этих соотношений сходны с соотношениями, ожидаемыми в F_2 при расщеплении дополнительных или дубликатных генов, или тождественны этим соотношениям. Очевидно, что различие между действием дополнительных генов (отношение 9:7), дубликатных генов и супрессоров проводится на основании характера и наличия или отсутствия доминирования и определений стандартного или дикого типа. Может ли это различие служить указанием на какую-либо существенную разницу между данными типами взаимодействия генов — вопрос спекулятивный.

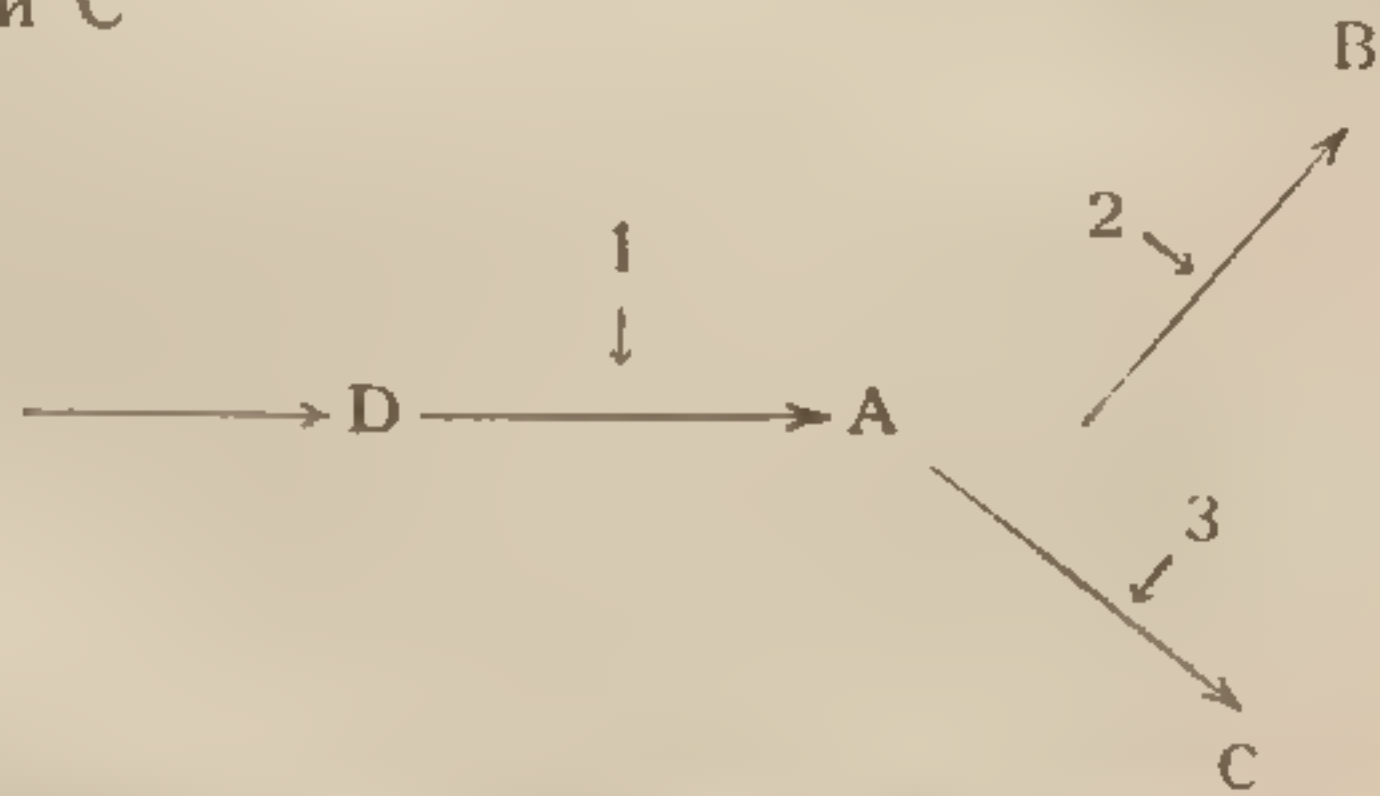
В связи со сходством между некоторыми соотношениями в расщеплениях с участием супрессоров и дубликатных генов необходимо заметить, что имеется достаточно данных, чтобы различать эти два типа на основе действия генов. Ген-супрессор можно представить себе как дубликатный ген, принявший на себя роль, исполнявшуюся ранее нормальным аллелем подавляемого гена. Однако против предположения о том, что все гены-супрессоры представляют собой удвоения, свидетельствуют следующие факты: 1) мы не располагаем доказательствами того, что все супрессоры обладают специфичным действием; супрессоры, способные подавлять мутант-специфичный фенотип ряда различных генов, бесспорно, не являются удвоенным фенотипом каждого из этих генов. Едва ли можно ожидать, чтобы супрессор *Hairy wing* повторял действие восьми других генов или чтобы *su-ryr* заменял собой *ryr 3a* и *prol 2* и *prol 3*; 2) гены-супрессоры могут обуславливать мутантный фенотип независимо от других мутантных

генов; 3) существуют супрессоры, связанные с нехватками. Например, супрессор Star, по-видимому, локализован в нехватке [369]. Вряд ли отсутствие одного гена замещает функцию другого; 4) сочетание супрессора и подавляемого гена может обусловить развитие фенотипа, несколько отличающегося от дикого типа. Например, двойной мутантный штамм нейроспоры, полученный путем сочетания мутации, обуславливающей потребность в пиримидине, и супрессора этой мутации, растет в отсутствие пиримидина, но чрезвычайно чувствителен к подавлению аргинином и близкими к нему соединениями. Рост дикого типа не подавляется сколько-нибудь существенно этими соединениями [303].

Совокупность этих наблюдений убедительно показывает, что для объяснения действия генов-супрессоров недостаточно предположить дублирование действия гена. Это не означает, что среди генов, называемых супрессорами, нет таких, действие которых представляло бы собой повторение действия нормального аллеля, и обратно, а всего лишь свидетельствует о том, что дублирование и подавление — два разных явления.

Для объяснения действия генов-супрессоров напрашиваются несколько возможных механизмов, имеющих достаточно общий интерес, чтобы заслуживать несколько более подробного рассмотрения. Укажем некоторые из этих возможных механизмов: 1) ген-супрессор восстанавливает метаболическое равновесие, замедляя или ускоряя реакцию, имеющую отношение к реакции, контролируемой подавляемым мутантным геном; 2) ген-супрессор открывает возможность альтернативного пути метаболизма, приводящего к образованию продукта, синтез которого был блокирован подавляемым мутантным геном; 3) ген-супрессор снижает специфическую активность подавителя, препятствующего образованию необходимого продукта у мутанта, но не у особей дикого типа.

Вероятность существования некоторых из этих механизмов легче всего оценить, рассмотрев несколько простых метаболических систем типа приведенной ниже, в которой комплекс реакций сконцентрирован вокруг промежуточного соединения А, образующегося в ограниченном количестве из предшественника D. Образование В и С



зависит от А, причем совершенно очевидно, что если А образуется в ограниченном количестве, то увеличение скорости образования В

или С приведет к тому, что будет мало или даже не будет вследствие паразитического образования, что даст впечатление, что мутация, непосредственно действующая на В, может оказывать уменьшение количества. Действие гена-супрессора создающего возможность заключается, по-видимому, катализирующей реакции за А, либо в ускоряющей реакцию 1, следовательно, и С. В обоих случаях нормальное явление, что любая генная мутация катализирующих реакций «супрессора».

Нельзя также забыть, что супрессор может заключаться в пути метаболизма. Как особенно вероятно в окислении солей, происходит многими реакциями таким образом, что потребность в ацетате у штаммов нейроспоры. У мутанта наблюдается расстройство, ведущее к накоплению. Как уже указывалось, результатом подавления естественным продуктом другого гена, влияющей мутации гена, контролирующего фермент со сходной функцией, лишена дополнительная бы подавляющее действие, может привести к появлению.

Назвать ген модифицирующим, взаимодействующим с другим геном, или подавляемым этим геном.

или С приведет к тому, что образование второго из этих веществ будет мало или даже ничтожно мало. Так, если реакция 2 ускорится вследствие повышения ферментативной активности, то количество образующегося вещества С может упасть до нуля. Тогда создается впечатление, что блокирована реакция 3. Будет казаться, что мутация, непосредственно затрагивающая реакцию 2, более непосредственно действует на реакцию 3, так как увеличение количества В может оказать ничтожное влияние на фенотип, тогда как уменьшение количества С будет иметь существенные последствия. Действие гена-супрессора, восстанавливающего равновесие, т. е. создающего возможность образования необходимого количества С, заключается, по-видимому, либо в повышении активности фермента, катализирующего реакцию 3, что приводит к более успешной конкуренции за А, либо в повышении активности фермента, катализирующего реакцию 1, вследствие чего образуется больше А, а следовательно, и С. В обоих случаях конечным результатом будет восстановление нормального фенотипа. Таким образом, можно ожидать, что любая генная мутация, повышающая активность ферментов, катализирующих реакцию 1 или 3, приведет к появлению гена-«супрессора».

Нельзя также забывать, что действие некоторых генов-супрессоров может заключаться в том, что они открывают альтернативный путь метаболизма. Как заметил Лейн [361], подобное действие особенно вероятно в отношении таких метаболических процессов, как окисление солей пировиноградной кислоты, заведомо могущее происходить многими различными путями. Поэтому Лейн объяснил именно таким образом действие супрессора, частично снимающего потребность в ацетате у некоторых нуждающихся в этом соединении штаммов нейроспоры. У этих мутантов, как показал Штраус [620], наблюдается расстройство обмена пировиноградной кислоты, приводящее к накоплению ацетилметилкарбинола (ацетина).

Как уже указывалось, генетическое блокирование может быть результатом подавления синтеза какого-либо метаболита другим существенным продуктом обмена, вырабатываемым в избытке (см. стр. 229). Это подавление может быть снято вследствие мутации другого гена, влияющего на синтез подавляющего вещества, или мутации гена, контролирующего образование подавляемого фермента. В последнем случае начинает вырабатываться качественно новый фермент со сходной функцией, но его структурная конфигурация лишена дополнительных поверхностей, которые притягивали бы подавляющее вещество. Очевидно, что любой тип мутации может привести к появлению новых генов, действующих как супрессоры.

О МОДИФИКАТОРАХ ВООБЩЕ

Назвать ген модификатором означает констатировать, что он взаимодействует с другим геном и видоизменяет фенотип, обусловливаемый этим геном. Сам модификатор иногда производит эффект,

но может и не производить его. Все описанные выше примеры взаимодействия генов касаются модификаторов, резко изменяющих фенотип в сторону дикого типа или мутантного состояния. Крайние случаи генов-супрессоров и дополнительных генов, с одной стороны, и генов, по-видимому, вызывающих характерный для них фенотипический эффект совершенно независимо от других генов, — с другой, связаны полным рядом переходов. Большинство этих промежуточных типов лучше всего обозначить общим термином «модификаторы», хотя и среди них можно провести некоторые различия на основании их фенотипического действия.

Модификаторы могут ускорить или усилить фенотипический эффект других генов. Так, ген В у кукурузы является доминантным усилителем антоциановой пигментации [159], обуславливающим образование большего количества пигмента у тех растений, которые вырабатывают этот пигмент в силу наличия у них других генов, контролирующих продуцирование антоциана. У дрозофилы известны усилители некоторых мутантных фенотипов, например доминантный усилитель Minute (E-M (3) g) и Star (E-S) и рецессивный усилитель Notch (e-N⁸) [74]. Два рецессивных мутантных гена, abbreviated (abb) и shrunc (shr), взаимно усиливают друг друга [74]. Мухи, гомозиготные только по одному из них, обнаруживают лишь относительно слабый мутационный эффект и значительную трансгрессию с диким типом. Однако у двойных мутантов все мухи имеют уменьшенные щетинки и сжатое тело, т. е. эти признаки полностью пенетрантны. Ген-усилитель, помимо усиления мутантного фенотипа, может оказывать и другое действие. В качестве иллюстрации можно привести супрессор purple (su^B-pr), который наряду со своим подавляющим действием оказывает еще и интенсифицирующее влияние на Hairy wing.

Изучение наследования окраски шерсти у млекопитающих показало, что у большинства видов имеются гены, ослабляющие пигментацию волос и превращающие черный цвет в серый, бурый — в желтоватый и т. д. [95, 96, 249]. Эти гены-разбавители рецессивны и, по-видимому, лишь уменьшают количество пигмента, не оказывая больше никакого заметного фенотипического действия. Если основные гены окраски у животного таковы, что оно должно быть альбиносом, то никакие замещения аллелей в локусах генов-разбавителей, естественно, фенотипически не проявляются. Доминантные аллели генов-разбавителей можно назвать интенсификаторами, или усилителями.

По фенотипическому эффекту гены-ингибиторы близки к генам-разбавителям, но оказывают более сильное действие. Обычно это — доминантные гены, препятствующие развитию такого признака, как, например, пигментация, даже в случае наличия активных аллелей всех генов, определяющих развитие этого признака. Поэтому их можно назвать эпистатическими по отношению к генам, определяющим пигментацию. Примером ингибиторов пигмента могут служить гены, препятствующие развитию пигмента у кур [309], лошадей

[95, 96], кроликов, со-
должен дать в F₂ рас-
ным. Термины «гены»
не применять к реце-
рассматривать как д-
подавляют. Примеро-
white eye (w) у дрозо-
нии белоглазость не-
ющих на цвет глаз.

При изучении ка-
из особей одного вид-
всегда обнаруживае-
признака. Часть этой
них условий, одна-
что в основном она
как длина какой-ни-
же урожай какого-
ваемый количествен-
ствует биномиально-
вания различных ва-
признак контролиру-
собствует развитию
слабым влиянием. Н-
крайне высоких жи-
динга высоких или н-
высокой или низкой
следует, что в ней
Если затем скрести-
окажутся промежу-
ких особей среди ни-
даст F₂ с большим р-
крайне низких, но
ными в соответствии
ответственные за та-
зываются множестве-
которые авторы, на-
сами по себе дейст-
определении призна-
тогда, когда они де-
Мазер называет их
олигогенов, с силь-
мутаций полигенов
ышеописанная сла-
к появлению мута-
известных пределах
вариаций немута-
Проведение раз-
значение для

[95, 96], кроликов, собак и кошек [96, 249]. Доминантный ингибитор должен дать в F_2 расщепление на 3 стандартные формы к 13 мутантным. Термины «гены-ингибиторы» или «эпистатические гены» лучше не применять к рецессивным мутантным аллелям. Последние лучше рассматривать как дополнительные к генам, которые они, видимо, подавляют. Примером этой категории генов может служить ген *white eye (w)* у дрозофилы, обуславливающий в гомозиготном состоянии белоглазость независимо от состояния всех других генов, влияющих на цвет глаз.

При изучении какого-либо признака в популяции, состоящей из особей одного вида, фенотипически относящихся к дикому типу, всегда обнаруживается известная степень изменчивости данного признака. Часть этой изменчивости можно приписать влиянию внешних условий, однако генетическая проверка обычно показывает, что в основном она наследственна. Если изучается такой признак, как длина какой-нибудь части тела, вес, степень пигментации или же урожай какого-либо сельскохозяйственного растения, учитываемый количественно, то кривая изменчивости обычно соответствует биномиальному распределению. Результаты опытов скрещивания различных вариантов друг с другом показывают, что данный признак контролируется многими генами, каждый из которых способствует развитию этого признака, но сам по себе обладает лишь слабым влиянием. Например, можно выводить крайне низких или крайне высоких животных или растения путем постоянного инбридинга высоких или низких особей. Обычно это приводит к выведению высокой или низкой линии, разводящейся достаточно чисто, из чего следует, что в ней достигнута большая степень гомозиготности. Если затем скрестить между собой крайние формы, то гибриды окажутся промежуточными — ни крайне высоких, ни крайне низких особей среди них не будет. Скрещивание между собой гибридов дает F_2 с большим размахом изменчивости — от крайне высоких до крайне низких, но большинство потомков останутся промежуточными в соответствии с кривой биномиального распределения. Гены, ответственные за такую непрерывную изменчивость признака, называются *множественными* или *количественными факторами*. Независимо от того, какие авторы, например Мазер [406], предполагают, что эти гены сами по себе действительно оказывают лишь слабое действие в определении признаков организма. Их влияние проявляется лишь тогда, когда они действуют аддитивно или кумулятивно, группами. Мазер называет их *полигенами* в отличие от главных генов, или *олигогенов*, с сильным, несдвигающимся действием. В результате мутаций полигенов или замещения их другими аллелями возникает вышеописанная слабая изменчивость. Мутация олигогена приводит к появлению мутантного признака, который может варьировать в известных пределах, но его вариации никогда не заходят за пределы вариаций немутантного признака.

Проведение различия между полигенами и олигогенами имеет значение для статистического истолкования наследования коли-

видов хлопчатника. Силов [562] описал результаты скрещивания азиатского хлопчатника, *Gossypium anomalum*, характеризовавшегося особой формой листа, обусловленной наличием аллеля L^A , с другим азиатским видом — *G. arboreum*. Путем повторных возвратных скрещиваний гибридов с *G. arboreum* удалось перенести имевшийся у *G. anomalum* аллель L^A в генотип, состоявший практически только из генов *G. arboreum*. Как видно из фиг. 78, в генотипе *G. anomalum* L^A обуславливает развитие фенотипа, существенно отличного от фенотипа, развивающегося у *G. arboreum*. Данный ген не мутировал, но его фенотипическое выражение изменилось вследствие изменения набора генов-модификаторов.

Таблица 39

Влияние генов-модификаторов на фенотип двух штаммов нейроспоры, нуждающихся в триптофане [263]

Вещество	Штамм	C86	int	39401	nic
Фенилаланин		++	От + до следов	Следы	Следы
Антраниловая кислота		+++	++	»	»
Индол		+++	++	++	»
Триптофан		+++	++	++	»
Кинуренин		+++	++	++	++
3-Оксикинууренин		+++	++	++	++
3-Оксиантраниловая кислота		+++	++	++	++
Никотиновая кислота		+++	++	++	++

Как можно видеть из описания действия гена-супрессора, подавляющего потребность в пиримидине у нейроспоры, модификационное действие отмечено и в отношении генов, оказывающих влияние на пищевые потребности этого организма. Другим ярким примером модифицирования мутантного фенотипа, характеризующегося измененными пищевыми потребностями, является действие генов-модификаторов на признаки мутантных штаммов C86 и 39401 [263]. Это нуждающиеся в триптофане мутанты, потребности которых, помимо триптофана, удовлетворяются также и рядом других родственных ему соединений (табл. 39). По крайней мере шесть генов-модификаторов в различных сочетаниях со штаммами C86 и 39401 обуславливают возникновение промежуточных фенотипов с измененными пищевыми потребностями; примерами могут служить приведенные в табл. 39 выщепенцы int и nic. Действие генов-модификаторов сводится к видимому перемещению «генетических блоков» путем модифицирования действия гена, по-видимому, ответственного за блокирование (см. также стр. 269). Очевидно, что при соответствующих условиях наблюдения такие гены рассматривались бы не как «слабые модификаторы», а как главные гены, вызывающие сильный эффект.

ГРУППЫ ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ ГЕНОВ, ОКАЗЫВАЮЩИХ Сильное ВЛИЯНИЕ НА ОПРЕДЕЛЕННЫЕ ПРИЗНАКИ

Пожалуй, яснее всего можно понять всю сложность взаимодействия генов, рассмотрев несколько примеров действия групп генов на какой-нибудь определенный признак, например на пигментацию. Излюбленным объектом для изучения взаимодействия генов всегда было наследование пигментов, от которых зависит окраска цветков. В результате были получены ясные доказательства большой сложности взаимодействия генов и, кроме того, было установлено существование ряда интересных явлений, несомненно свидетельствующих о групповом действии генов. Одно из этих исследований мы рассмотрим довольно подробно и попытаемся проанализировать некоторые результаты на сравнительно простых примерах, уже приведенных выше.

Известно, что окраска цветков мака *Papaver Rhoeas* контролируется по крайней мере десятью генами [456, 483]. Лишь семь из них представляют сейчас для нас интерес, поскольку нам кое-что известно об их влиянии на распределение и синтез пигментов, определяющих окраску цветка [554] (см. фиг. 79). Рассматривая только первичный эффект каждого из этих семи генов независимо от его взаимодействия с другими, мы можем констатировать, что замена рецессивного аллеля доминантным приводит к следующим результатам:

1. Ген С. Доминантный аллель служит общим интенсификатором образования антоциана в лепестках, за исключением пятна у основания лепестка, на пигментацию которого он не влияет (фиг. 79). Растения, гомозиготные по рецессивному аллелю с, содержат очень мало антоциана независимо от состояния остальных генов.

2. Ген Р. В присутствии доминантного аллеля антоцианы ацетируются и кислотность клеточного сока в лепестках повышается.

3. Ген Е. У растений, несущих ген Е, все или часть производных антоцианидина представлены цианидином. Растения, гомозиготные по рецессивному аллелю е, содержат только производные пеларгонидина.

4. Ген В. Подобно гену С, действует как общий интенсификатор образования антоциана, но он влияет также и на пигментацию пятна. У растений Е пятно черное и содержит цианидин, а у растений е — коричневое и содержит пеларгонидин. Растения генотипа bb всегда имеют белое пятно независимо от остального генотипа.

5 и 6. Гены Т и F. Эти гены влияют на образование пеларгонидина в растениях, несущих ген Е. В растениях Etf пеларгонидин не образуется.

7. Ген I является доминантным ингибитором образования антоксантина.

Были получены различные комбинации доминантных и рецессивных аллелей этих семи локусов и описаны соответствующие фенотипы. [456, 483]. Скот-Монкриф [554] проанализировал содержание

антоциана и антоксан-
и произвел приближен-
вании этих определе-
тельно взаимодейств-
дений мы рассмотрим а-
полное количество а-
говоря, аллели С и

Р
Вызывает
ацетилирование
антоцианов

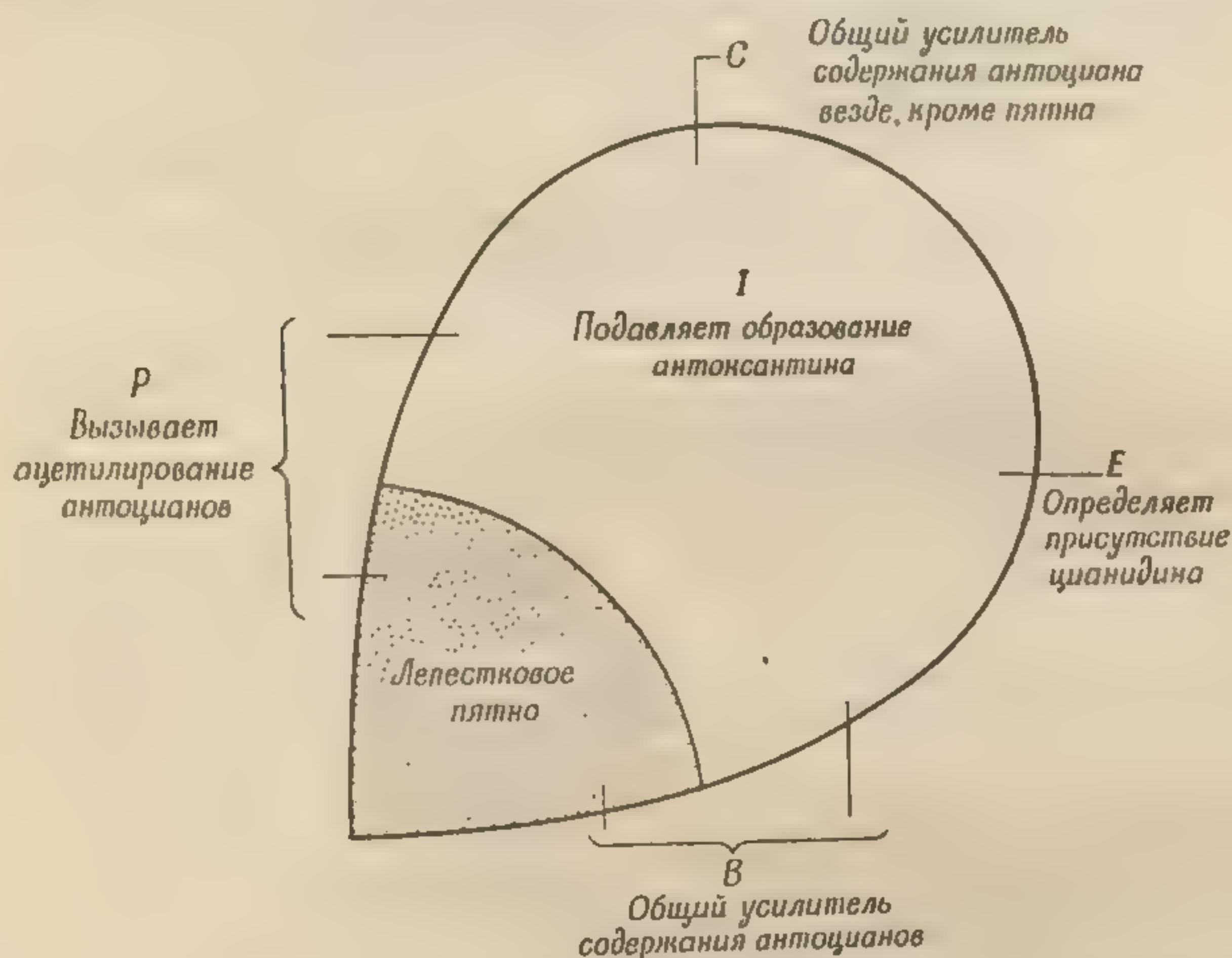
Фиг. 79. Влияние
(изоб

остальные замеща-
генотипы и соответ-
Они расположены
обсуждения.

Взаимоотношен-
изменения в локу-
влияют на образо-
образование циани-
пеларгонидина или
Вместе с тем ген В
ETF, но не влияе-
видимому, ген В н-
ниях ETF.

Если вспомнит
наблюдений, по-в-

антоциана и антоксантина в цветках более чем 30 различных окрасок и произвел приблизительные количественные определения. На основании этих определений можно сделать некоторые выводы относительно взаимодействия генов *ETF1* и *B*. При последующем обсуждении мы рассмотрим лишь растения генотипа *Sr* (потенциально полное количество антоциана, отсутствие ацетилирования). Иначе говоря, аллели *C* и *r* будут оставаться константными, тогда как



Фиг. 79. Влияние генов *C*, *P*, *E*, *B* и *I* на окраску мака *Papaver Rhoeas* (изображен один лепесток, несущий пятно).

остальные замещаются, например *E* на *e*, *T* на *t* и т. д. Изученные генотипы и соответствующие им фенотипы приведены в табл. 40. Они расположены в порядке, наиболее удобном для последующего обсуждения.

Взаимоотношения *E*, *B*, *F* и *T* легче всего понять, рассмотрев изменения в локусе *B*. Как уже было отмечено, все эти гены влияют на образование антоциана. Ген *B*, замещая *b*, усиливает образование цианидина, но мало или вовсе не влияет на образование пеларгонидина или цианидина в присутствии гена *T* в растениях *ET*. Вместе с тем ген *B* уменьшает количество пеларгонидина в растениях *ETF*, но не влияет на его образование в растениях *eF* или *ef*. По-видимому, ген *B* не влияет на присутствие пеларгонидина в растениях *ETF*.

Если вспомнить о влиянии *B* и *b* на лепестковое пятно, то из этих наблюдений, по-видимому, можно сделать вывод, что *B* лишь весьма

косвенно влияет на образование пеларгонидина во всех частях лепестков, за исключением пятна. Кроме того, этот ген интенсифицирует образование цианидина лишь в отсутствие Т. Понижение содержания пеларгонидина в растениях EtF геном В сопровождается повышением содержания цианидина, что указывает на метаболическую связь между образованием цианидина и пеларгонидина. Гены F и T, принимающие на первый взгляд сходное участие в образовании пеларгонидина, очевидно, не представляют собой дубликации, так как Т уменьшает количество цианидина в растениях EB, тогда как F не уменьшает.

Таблица 40

Некоторые из фенотипических различий в окраске цветков мака, обусловленных взаимодействием генов E, T, I, F и B [554]

Генотипы	Присутствующие пигменты			Окраска лепестков (за исключением пятна)
	цианидин	пеларгонидин	антоксантин	
EtIfb	+	0	0	Бледная розовато-лиловая
EtIfB	+++	0	0	Цвета светлого портвейна
ETIfb	±	+++	0	Бордо
ETIfB	+	+++	0	»
ETiFb	+	++	++	С темным розовато-лиловым налетом
EtIFB	+++	+	+	Цвета коричневатого портвейна
etifb	0	+	++	Сиреневый
etifB	0	+	++	»
etiFb	0	+++	++	С тусклым карминовым налетом
etiFB	0	+++	++	То же
EtIfb	++	0	++	Розовато-лиловый
EtifB	++++	0	+	Цвета портвейна
etIFb	0	++	0	Почти бордо
ETifb	+	++	++	Цвета петунии

Если мы рассмотрим теперь взаимодействие I с EBF и T, то найдем, что I не только подавляет образование антоксантина, но несколько понижает и содержание цианидина в растениях EB и Eb (окраска розовато-лиловая или бледная розовато-лиловая и цвета портвейна или цвета светлого портвейна; см. табл. 40). Рассматривая эти примеры, можно также заметить, что В уменьшает количество антоксантина. I также подавляет образование пеларгонидина, но лишь в растениях e (окраска почти бордо или с тусклым карминовым налетом). В растениях E ген I повышает количество пеларгонидина, образуемого в присутствии Т (окраска цвета петунии или бордо), но не влияет на пеларгонидин, образующийся в присутствии F (окраска с темным розово-лиловым налетом или бордо).

Дать простое объяснение взаимодействиям, на которые указывают эти примеры, в терминах, применявшихся в предыдущих разделах, невозможно. Ген В можно рассматривать как интенсифика-

тор гена E, поскольку в то же время в то же время так как уменьшает содержание пеларгонидина в растениях антоксантина, разбавляя его. В некоторых условиях ингибирует то, что он служит в растениях E, играя роль прессора В, так как ETIfb и ETIfB дают разные фенотипы (в присутствии гена Т). Гена В можно судить по пятну на лепестках, это ясно показывает, что один из рассмотренных генов попадает в одну из категорий взаимодействия генов, описанных в предыдущих разделах, но очевидно, что, действие данного гена не должно приниматься во внимание, во-первых, фенотип, а во-вторых, влияние других генов, так как эффект гена на тот, на котором мы вынуждены, является результатом действия, что связано с первичными. Сколько бы сложилось мака, все же очевидно, могут быть результаты в процессе образования общего предшественника антоксантина и цианидина в некоторых генах Т с В и F с В. Действий, основанных на общем предшественнике, дана на фигуре, это объяснение, не t и f в отношении генов частей цветка, кро-

[illegible]

Ф и г. 80. Попытка объяснения действия генов, определяющих окраску цветков мака, основанная на предположении о конкуренции за общего предшественника.

эффект гена на том уровне, на котором мы вынуждены его изучать, имея дело с пигментами растений, является результатом взаимодействия с другими генами, то отсюда следует, что наблюдаемое влияние на фенотип может быть связано с первичным эффектом гена весьма косвенно.

Сколько бы сложную картину ни вскрыл анализ пигментов цветка мака, все же очевидно, что наблюдаемые взаимодействия частично могут быть результатом конкуренции за общих предшественников в процессе образования пигментов. Есть указания на существование общего предшественника антоцианов и антоксантинов, подобного описанному на стр. 91 в случае с *Dahlia*. Ген I, подавляя образование антоксантина, в то же время понижает и количество антоцианов в некоторых генотипах. Наличие конкуренции при образовании цианидина и пеларгонидина явствует из взаимодействия генов T с B и F с B в растениях E. Попытка объяснения этих взаимодействий, основанная на предположении о наличии конкуренции за общего предшественника, имеющегося в ограниченном количестве, дана на фиг. 80. Для того чтобы можно было использовать это объяснение, необходимо допустить, что рецессивные аллели b, t и f в отношении регуляции процесса образования пигмента во всех частях цветка, кроме пятна, действуют как гипоморфы. Возможно,

что ген I очень косвенно связан с образованием этих пигментов через контролирование какого-то гипотетического соединения, подавляющего образование антоксантина и цианидина, причем первое сильнее, чем второе. Поскольку это подавление должно приводить к исчезновению потребности в веществе-предшественнике, нужно ожидать, что содержание пеларгонидина возрастет, что и наблюдается в действительности.

Различия в меланиновых пигментах у морских свинок

Одним из наиболее изящных и исчерпывающих исследований наследования пигментов является исследование пигментов морской свинки, проводившееся Райтом и его сотрудниками на протяжении более чем 30 лет. Эти исследования показали, что образование меланина у животных представляет собой результат взаимодействия большого числа генов.

Меланин — это основной пигмент, обуславливающий окраску покровов и их производных (например, волос, перьев, чешуй) у позвоночных. Химический состав меланина не вполне ясен, но в его образовании, несомненно, участвуют продукты окисления тирозина. Обычно различают два типа меланинов (на основании цвета): темные, или эумеланины, и желто-оранжево-красные, или феомеланины. Меланин откладывается в виде видимых под микроскопом гранул в специальных клетках — меланофорах, локализующихся в покровах. Он входит в производные покровов во время их образования.

У морской свинки известно по крайней мере десять генных локусов, влияющих на цвет волос. Четыре из этих генов влияют главным образом на распределение окраски, и их эффект в данном обсуждении не будет приниматься во внимание; мы рассмотрим лишь наследование пигментации у одноцветных животных (табл. 41).

Ген E обуславливает присутствие эумеланина, а его рецессивный аллель e — феомеланина. Животные-эумеланисты могут, по видимому, содержать два качественно различных эумеланина — коричневый у животных bb и цвета сепии у животных B. Интенсивность обоих этих пигментов может быть ослаблена в присутствии рецессивного аллеля гена P. На количество желтого пигмента, феомеланина, влияет только неполностью доминантный ген F. Животные FF имеют интенсивную желтую окраску, а животные Ff и ff содержат, соответственно, все меньше и меньше желтого пигмента. В присутствии гена P ген F не влияет на окраску животных-эумеланистов, но животные ffrE не содержат эумеланина и могут содержать небольшое количество феомеланина.

Интенсивность пигментации, обусловленной генами E, P, F и B и их соответствующими аллелями, определяется серией альбиносических аллелей C, c^k, c^d, c^r и c^a. C в большинстве случаев полностью доминирует над остальными аллелями серии и обуславливает наиболее интенсивную пигментацию. Животные, гомозигот-

ные по c^a, альбинос
деляют пигментацию
Несмотря на не
ным определить ег
ных цветов и оттен
ского изучения экс
телях [173, 269, 524
ное количество пи

Количество

Алле- ли се- рии C	Эумеланистиче		
	сепия		ко
	EPFB	EPFFB	EPF
C-	100	17	100
ck ck	89	15	96
ck cd	82	11	102
cd cd	67	5,3	85
ck cr	94	9,1	97
ck ca	75	6,2	83
cd cr	72	3,3	96
cd ca	39	2,4	63
cr cr	81	2,0	93
cr ca	42	0,5	6
ca ⁺ ca	0	0	

стандартных шкур
методом, близко со
мощи эмпирическо
достаточно достове
полученные Райто
указан цвет глаз у
каж содержание м
сепии, коричневых
этих данных граф
Аллели серии C
нистических живо

ные по c^a , — альбиносы с розовыми глазами. Прочие аллели определяют пигментацию промежуточных интенсивностей.

Несмотря на неизученность химии меланина, оказалось возможным определить его количество в волосах морских свинок различных цветов и оттенков путем гравиметрического и колориметрического изучения экстрактов меланина в соответствующих растворителях [173, 269, 524]. Кроме того, Райт [712] определил относительное количество пигмента у разных фенотипов, используя серию

Таблица 41

Количество меланина в шерсти морских свинок [712]

Алле- ли се- рии С	Эумеланистические				Феомеланистические				Цвет глаз		
	сепия		коричне- вый		желтый и красный				Ее и Ff не влияют		
	EPFB		EPfb		EpFB	epFFB	epFFb	epffB	PB	Pb	pB
	EPiB	EpFFB	EPfb	EpFFb	Epfb	epFFB	epFFb				pb
C-	100	17	100	28	6,2	100	85	34	Черный	Корич- невый	Розо- вый
ck ck	89	15	96	23	0	36	31	4,5	*	*	*
ck cd	82	11	102	17	0	39	30	5,9	*	*	*
cd cd	67	5,3	85	14	0	36	33	5,1	*	*	*
ck cr	94	9,1	97	16	0	18	13	—	*	*	*
ck ca	75	6,2	83	13	0	17	14	0,5	*	*	*
cd cr	72	3,3	96	7,3	0	14	12	0,3	*	*	*
cd ca	39	2,4	63	4,0	0	14	14	0,5	*	*	*
cr cr	81	2,0	95	4,1	0	0	0	0	Темно- красный	Темный красно- корич- невый	*
cr ca	42	0,5	64	0,9	0	0	0	0	Светло- красный	Светлый красно- корич- невый	*
ca ⁻ ca	0	0	0	0	0	0	0	0	Розовый	Розовый	*

стандартных шкурок. Определения, полученные колориметрическим методом, близко совпадают с определениями, полученными при помощи эмпирической шкалы [712, 713], так что их можно считать достаточно достоверными. В табл. 41 приведены последние данные, полученные Райтом [712] по методу эмпирической шкалы, а также указан цвет глаз у животных различных генотипов. При всех оценках содержания меланина в волосах за 100% принято его содержание в волосах наиболее интенсивно окрашенных животных цвета сепии, коричневых и желтых. Для удобства анализа некоторые из этих данных графически представлены на фиг. 81.

Аллели серии С проявляются у эумеланистических и феомеланистических животных различно. У животных коричневой окраски

сепии у животных ЕРВ с влиянием этих аллелей на желтый пигмент у животных еFF и еFf, то обнаружится соответствие между эффектом разбавления у свинок цвета сепии в присутствии аллелей $c^d c^a$ и $c^d c^d$ и интенсификацией желтого пигмента. С другой стороны, при комбинациях $c^d c^a$, $c^d c^r$, $c^k c^a$, $c^k c^r$ и $c^d c^d$, $c^k c^d$, $c^k c^k$ образуется одинаковое количество феомеланина, тогда как количество эумеланина в их присутствии возрастает. Райт [709, 710] подробно объяснил это явление, исходя из предположения о конкуренции за общий субстрат и ферменты в процессе образования феомеланина и эумеланина.

Как ген Р, так и ген В снижают содержание эумеланина. Снижение, обусловленное геном В, незаметно в табл. 41 по той причине, что наиболее интенсивная коричневая окраска была принята за 100; в действительности, по-видимому, имеет место снижение, соответствующее $\frac{1}{3}$ содержания, наблюдаемого у животных цвета сепии. Помимо количественного уменьшения, аллель В обуславливает образование качественно иного пигмента — коричневого вместо цвета сепии. Ген р, по-видимому, не оказывает на эумеланин никакого действия, кроме того, что он снижает его количество как у коричневых свинок, так и у свинок цвета сепии и обуславливает полное его отсутствие у животных генотипа ff.

Рассел [529] и Гинзбург [199] исследовали активность фермента, предположительно участвующего в синтезе меланина у морской свинки, и пытались установить связь между активностью этого фермента и наблюдаемыми фенотипическими эффектами. Исходной точкой им служило допущение, что ДОПА (дигидроксифенилаланин) — продукт окисления тирозина (гидроксифенилаланина) — является промежуточным продуктом в синтезе меланина. В пользу такого допущения имеется довольно много экспериментальных данных, но прямые доказательства его справедливости в отношении морской свинки отсутствуют; известно лишь, что в присутствии ДОПА черный пигмент образуется теми тканями (и их экстрактами), которые наиболее активно синтезируют естественный меланин. Пигмент, образующийся из ДОПА, введенный извне, бывает черным даже у морских свинок, кажущихся чисто феомеланистическими. Определение окислительной активности в отношении ДОПА (активности ДОПА-оксидазы), экстрактов и срезов ткани кожи морских свинок многих различных генотипов совершенно ясно показало, что замещение аллелей в локусах Е, Р и В очень слабо или совсем не влияет, тогда как замещение в локусах С и F обладает совершенно определенным влиянием. Как у эумеланистических, так и у феомеланистических животных наблюдаются только четыре уровня активности аллелей серии С, соответствующие эффектам трех аллелей: С, c^{kd} и c^{ra} . Это как раз те три аллеля, которые проявляются у животных-феомеланистов. Замещение аллеля F аллелем f сходным образом ослабляет активность оксидазы в обоих пигментных типах. Отсюда был сделан вывод, что фермент, показателем активности которого служит окисление ДОПА, имеет отношение главным образом

к образованию феомеланина [199, 529]. Была также определена активность ДОПА-оксидазы активно продуцирующих меланин тканей домовой мыши, и результаты оказались в основном такими же. Активность ДОПА-оксидазы соответствовала содержанию феомеланина, но лишь слабо или совсем не соответствовала изменениям в количестве эумеланистических пигментов [528].

Характер пигментации домовой мыши был детально исследован Расселом [525—527] в отношении четырех признаков: 1) цвета гранул, 2) степени пигментированности, 3) размеров гранул и 4) слипания гранул. Все эти признаки имеют значение в определении окраски шерстного покрова. Влияние различных аллелей на эти четыре признака, определяющие характер пигментации, проявляется очень ярко, и его легко можно изучать на срезах через волосяные фолликулы.

В общем было найдено, что аллели серии С, по-видимому, влияют лишь на степень пигментированности, изменяя число гранул или уменьшая их размеры, а локус Р (соответствующий по своему эффекту локусу Р у морской свинки) вызывает аналогичное уменьшение объема гранул, но иным путем, изменяя как их форму, так и размеры. Качественные изменения пигментных гранул наблюдались в результате замещения аллелей в локусах В (коричневый) и А^у. Оба этих локуса, видимо, регулируют тип имеющегося пигмента: при замещении аллеля В аллелем b он из черного или темного становится коричневым, а замена А^у на а^у приводит к выработке феомеланина вместо эумеланина. Изменение в качестве гранулярного пигмента, вызываемое геном В, сопровождается изменением в форме пигментных гранул и общем их объеме. Так называемый «ген-разбавитель» d мыши, не имеющий соответствующего себе у морской свинки, на основании визуального сравнения окраски, по-видимому, уменьшает общее содержание пигмента как у эумеланистов, так и у феомеланистов; его доминантный аллель D не вызывает такого разбавления. Однако гистологическое исследование показывает, что замена D на d не приводит к уменьшению общего объема пигмента (в действительности этот объем, видимо, увеличивается) и что наблюдаемое посветление окраски является результатом слипания гранул.

Эти наблюдения имеют существенное значение для анализа различий в окраске шерсти. Они ясно показывают, что химический подход к проблеме, даже если бы химия меланина была известна, должен сопровождаться учетом морфологической и эмбриологической ее сторон.

Как и исследования пигментов растений, изучение наследования меланинов у позвоночных, иллюстрированное приведенными выше примерами, показало, что генезис простого признака вроде пигментации весьма сложен и связан с взаимодействием многих генов. Генетик обычно знает о существовании лишь немногих из этих генов, так как он ограничен изучением жизнеспособных мутаций, затрагивающих цвет шерсти. Мы должны считать,

Взгля
что это относится не то
типа, хотя лучшие д
получены при изучении
легкости изучения взаи
несомненно, заключае
различным аллелям, п
получие организма, ка
посредственно контро
функции, мутировали к
что приводило бы к лет
придающих такое боль
в том, что в данном с
трудность, используя
среде, но реагирующи
Нужно ожидать, что
низма и ему подобных
за пределы, достигнут

Организм представ
тысяч генов. Его фен
ной, сбалансированно
тов всех генов генома
ствуют друг с другом
модификаторами — мо
чтобы система модифи
чала функционирующ
лансирована; это и
димо иметь не только
щихся в таких количе
оказывается сбаланси

В известном смысле
подтверждение в каж
мости определенного
эта идея, пожалуй, б
ного процесса опреде
почти у всех организ
хромосомами. Суще
тельное равенство по
сом между генами, и
сомы. Бриджес [73]
аутосом набора Dro
аутосом у самки, ХУ
Некоторые из получ
приведены в табл.
аутосом представле
лы " " "

что это относится не только к пигментации, а ко всем аспектам фенотипа, хотя лучшие доказательства сложности взаимодействия и получены при изучении наследования пигментации. Причина такой легкости изучения взаимодействия генов, связанных с пигментацией, несомненно, заключается в том, что эти гены способны мутировать к различным аллелям, не затрагивая в значительной степени благополучие организма, как это было бы в том случае, если бы гены, непосредственно контролирующие существенные физиологические функции, мутировали к аморфным или слабо гипоморфным аллелям, что приводило бы к летальному эффекту. Один из главных моментов, придающих такое большое значение работе с нейроспорой, состоит в том, что в данном случае генетик может преодолеть описанную трудность, используя мутанты, хотя и летальные на минимальной среде, но реагирующие на диффундирующие ростовые вещества. Нужно ожидать, что изучение взаимодействия генов у этого организма и ему подобных расширит наши знания в этой области далеко за пределы, достигнутые путем исследования пигментации.

ГЕННЫЙ БАЛАНС

Организм представляет собой результат совместного действия тысяч генов. Его фенотип формируется под влиянием упорядоченной, сбалансированной и синхронизированной активности продуктов всех генов генома. С этой точки зрения все гены взаимодействуют друг с другом через их продукты, и потому все они являются модификаторами — модификаторами активности друг друга. Для того чтобы система модификаторов действовала гармонично и дала начало функционирующему организму, эта система должна быть сбалансирована; это и есть *генный баланс*. Иными словами, необходимо иметь не только полный набор генов, но и набор генов, находящихся в таких количественных соотношениях, при которых система оказывается сбалансированной.

В известном смысле представление о геномном балансе получает подтверждение в каждом опыте, который свидетельствует о зависимости определенного признака более чем от одного гена, однако эта идея, пожалуй, более ясно вытекает из рассмотрения нормального процесса определения пола у дрозофилы. У этого вида, как и почти у всех организмов с половым диморфизмом, пол определяется почти исключительно хромосомами. Существует механизм, обеспечивающий приблизительно равное соотношение полов, и у дрозофилы он, видимо, связан с балансом между генами, находящимися в аутосомах, и генами X-хромосомы. Бриджес [73] описал влияние изменения нормального хромосомного набора *Drosophila melanogaster* (2X и по паре каждой из аутосом у самки, XY и по паре каждой из аутосом у самца) на пол. Некоторые из полученных комбинаций и соответствующие фенотипы приведены в табл. 42. В этой таблице 1А означает, что каждая из аутосом представлена один раз; 2А — что она представлена дважды и т. д.

Как можно видеть, самка возникает всякий раз, когда отношение числа X-хромосом к числу наборов аутосом равно 1:1. Исключительные самки, так называемые «сверхсамки», возникают при отношении $3X : 2A$. Если отношение числа X-хромосом к числу наборов аутосом уменьшается, возникают нормальные самцы ($1X : 2A$; $2X : 4A$) и «сверхсамцы» ($1X : 3A$). При отношениях, промежуточных между $1X : 2A$ и $1X : 1A$, появляются особи, обладающие и мужскими и женскими вторичными половыми признаками, так

Таблица 42

Влияние изменения соотношения числа X-хромосом и аутосом на определение пола у *Drosophila melanogaster*

Пол	Соотношение числа X-хромосом и аутосом
Сверхсамка	$3X : 2A$
Самка	$4X : 4A$
«	$3X : 3A$
«	$2X : 2A$
Интерсекс	$3X : 4A$
«	$2X : 3A$
Самец	$1X : 2A$
«	$2X : 4A$
Сверхсамец	$1X : 3A$

X-хромосоме тенденции к определению женского пола. Это может быть обусловлено присутствием в X-хромосоме одного гена или группы генов. Многочисленные опыты с применением специальной методики, сводившейся к удвоению небольших участков X-хромосомы у самцов и интерсексов, доказали, что в этой хромосоме нет какого-либо одного гена или тесно сцепленных генов, которые могли бы превратить самца или интерсекса в самку [120, 144, 476, 485]. Многочисленные гены-определители женского пола распределены по хромосоме почти случайно и действуют кумулятивно в направлении развития женского пола совместно с аутосомными генами, которые можно считать действующими в направлении развития мужского пола.

Хотя при нормальных условиях пол дрозофилы можно изменить лишь путем изменения числа целых блоков генов, находящихся в аутосомах и в X-хромосоме, это не означает, что пол не может быть изменен в результате мутации одного гена. У *D. melanogaster* [219, 626] и *D. virilis* [355, 613] был описан ряд мутаций аутосомных генов, превращающих диплоидных ($2X : 2A$) самок в стерильных самцов или в интерсексов. Таким образом, несмотря на то, что, как известно, в определении пола участвует много генов, изменение одного гена может вызвать полное или частичное превращение пола. Это может показаться парадоксом, но в действительности именно

называемые «интерсексы». Например, особи с соотношениями $3X : 4A$ и $2X : 3A$ оказываются интерсексами: Y-хромосома, нормально присутствующая у самца, по-видимому, не играет роли в определении пола, так как самки строения $2XY : 2A$ оказываются типичными самками, а особи $XO : 2A$ внешне определены являются самцами, хотя и стерильными.

Тот факт, что самки всегда возникают, когда число X-хромосом равно числу наборов аутосом или больше него, указывает на преобладание в

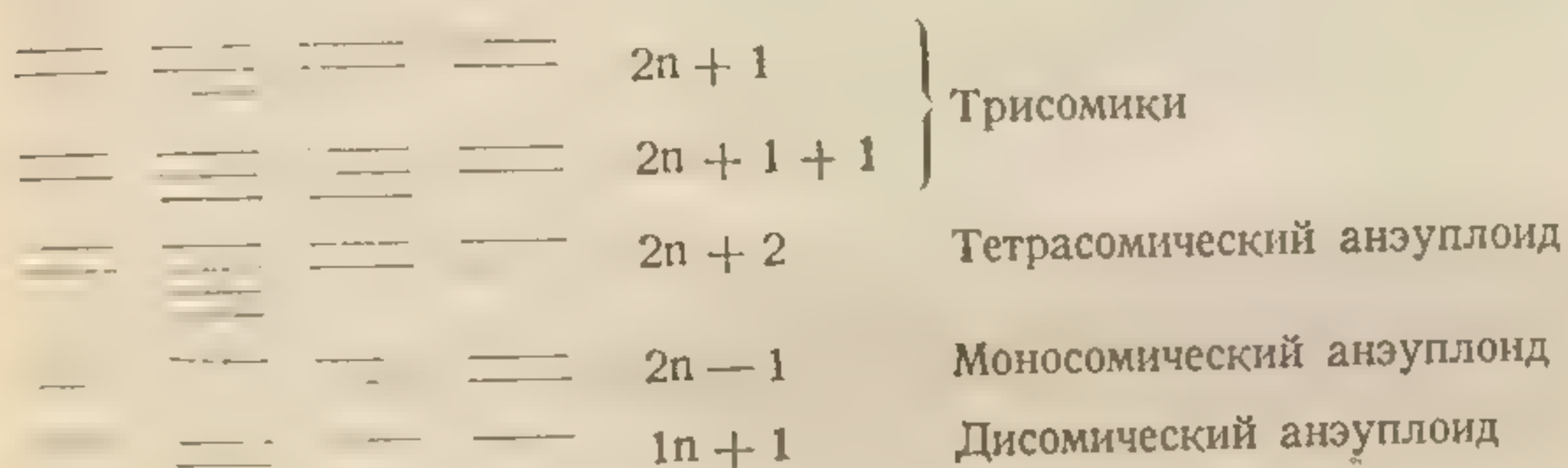
этого и нужно бы
этой главе. Среди
печивает развити
признаков, есть ге
ных относительно
гены, как показы
сомами, могут д
один в направле
пола. Поэтому в

генов, достаточн
активность в н
превращение по
нутя неизменн

Концепция
результатами а
ния определени
парного шелко
у наездника Н
согласующимся

Используя
ных участков г
действует и пр
видов растени
ного набора с
аналогично от
тренным в свя
носят общее
типов предста
т. д.) об-
дов и
мана
лишь
ваемы
со

этого и нужно было ожидать, исходя из всего, что было сказано в этой главе. Среди многих генов, совместное действие которых обеспечивает развитие половых органов и других вторичных половых признаков, есть гены, которые должны присутствовать в определенных относительных дозах, чтобы развился тот или другой пол. Эти гены, как показывают соотношения между X-хромосомами и аутосомами, могут действовать в противоположных направлениях — один в направлении развития мужского, а другой — женского пола. Поэтому вполне вероятно, что мутация какого-либо из этих



Фиг. 82. Некоторые типы анеуплоидов.

генов, достаточно сильно уменьшающая или увеличивающая общую активность в направлении развития определенного пола, вызовет превращение пола даже при условии, что все другие гены останутся неизменными.

Концепция генного баланса подкрепляется отнюдь не только результатами анализа определения пола у дрозофилы. Исследования определения пола у разных видов животных, например у непарного шелкопряда *Lymantria* [206], у рыбки гуппи *Lebistes* [698], у наездника *Habrobracon* [686] и других, привели к результатам, согласующимся с представлением о генном балансе.

Используя методику увеличения или уменьшения числа различных участков генома, можно показать, что механизм генного баланса действует и при определении иных признаков, чем пол. У некоторых видов растений часто появляются особи, имеющие сверх нормального набора еще одну или несколько добавочных хромосом, что аналогично отклонениям в хромосомных наборах, только что рассмотренным в связи с определением пола. Такие отклонения от нормы носят общее название *анеуплоидии*. Некоторые из анеуплоидных типов представлены на фиг. 82. Трисомики ($2n + 1$, $2n + 1 + 1$ и т. д.) обычно легко отличить по фенотипу от нормальных диплоидов или почти нормальных триплоидов и тетраплоидов. Как у дурмана *Datura* [47], так и у табака *Nicotiana glauca* [215] добавление лишнего хромосом оказывает заметное влияние на фенотип. Вызываемые фенотипические отклонения зависят от того, какая хромосома добавлена, и от размеров лишнего участка, если добавлена лишь часть хромосомы. Эти отклонения могут состоять в изменении общих размеров растения, формы листьев и цветков и многих фи-

физиологических признаков вроде срока цветения и т. д. Крайние отклонения замечаются в дисомических гаплоидах *Datura*. Как показывает фиг. 83, гаплоид меньше нормального диплоида, и добавление одной хромосомы не приближает его к фенотипу диплоида, а оказывает очень резкое влияние в обратном направлении.



Фиг. 83. Сравнение диплоидов, гаплоидов и дисомиков дурмана (*Datura*) [537].

Удвоение участков хромосом у *Drosophila melanogaster* [81, 475] также вызывает ненормальности в развитии, отражающиеся в первую очередь на плодовитости и жизнеспособности. Это относится к удвоениям участков как половых хромосом, так и аутосом, хотя удвоение некоторых частей последних вызывает более резкие изменения, чем удвоение частей половых хромосом. Этот факт свидетельствует о наличии внутренней выносливости X-хромосомы к удвоениям, что, несомненно, связано с ее ролью в определении пола и тем обстоятельством, что она регулярно бывает в гаплоидном состоянии у самцов и в диплоидном у самок.

Скрещивания между разными видами часто приводят к появлению бесплодных потомков или потомков, резко отличающихся от каждой из родительских форм. Стерильность межвидовых гибридов особенно интенсивно изучалась при скрещивании разных видов дрозофилы [474]. Резкие морфологические изменения были описаны у гибридов между *D. athabasca* и *D. azteca*. В этом случае гибриды в зависимости от типа скрещивания могут быть гигантскими или карликовыми по сравнению с родительскими формами [628]. Сходные морфологические изменения наблюдаются также и при

к... скрещиваниях...
к... скрещиваниях...
к... скрещиваниях...
к... скрещиваниях...
к... скрещиваниях...
к... скрещиваниях...
к... скрещиваниях...
к... скрещиваниях...
к... скрещиваниях...
к... скрещиваниях...

Вместе с тем у...
часто наблюдается...
признаков, имеющих...
или экономическую...
название гетерозиса...
прямое следствие д...
готовности. Предложе...
котором находит с...

Общепризнано, ...
причин, однако пре...
лучше всего согла...
они основаны на то...
Согласно одному и...
«благотворными» де...
ствий у гибрида...
гибрида путем инб...
щие вредное дейст...
ствующие домина...
ность того, что в...
гомозиготное состо...
а потому после ск...
ствия окажутся п...

Вторая гипотеза...
по двум аллелям...
чем соответствующ...
вора, более чем д...
сериях аллелей а...
каких на основан...
было бы ожидае...
гетерозиготах. К...
ко аллельментарно...
аллельными и м...
характерный фенот...
уг в гомозиготн...
ных сеянцев, в...
(ру) гетерозигот...
данное взаимодей...
связан с нехв...

межвидовых скрещиваниях растений, например мхов [746] и цветковых растений [569]. В некоторых случаях такой результат объясняется нерасхождением хромосом, приводящим к анеуплоидии, но в большинстве случаев ненормальные гибриды являются обычными диплоидами или полиплоидами и несравнимы с рассмотренными выше анеуплоидами. Тем не менее общее объяснение остается тем же: соединение двух несколько различных наборов генов в одном индивидууме приводит к возникновению несбалансированной генетической системы, неспособной нормально функционировать.

Вместе с тем у гибридов от скрещивания неродственных линий часто наблюдается усиление какого-либо признака или группы признаков, имеющих приспособительную ценность для организма или экономическую ценность для селекционера. Это явление носит название *гетерозиса*, или *гибридной мощности*, и представляет собой прямое следствие достижения гибридом высокой степени гетерозиготности. Предложен ряд гипотез для объяснения этого явления, в котором находит свое выражение генный баланс.

Общепризнано, что гетерозис — явление сложное и имеет много причин, однако предложено два объяснения, которые, по-видимому, лучше всего согласуются с имеющимися данными [121, 122]. Оба они основаны на том, что гетерозис порождается гетерозиготностью. Согласно одному из них, гетерозис — это результат маскирования «благоприятными» доминантными аллелями эффекта «вредных» рецессивов у гибрида. Предполагается, что при выведении родителей гибрида путем инбридинга некоторые рецессивные гены, оказывающие вредное действие, гомозиготизируются, а их благоприятно действующие доминантные аллели тем самым элиминируются. Вероятность того, что в двух разных инбридируемых линиях перейдут в гомозиготное состояние одни и те же вредные рецессивы, очень мала, а потому после скрещивания этих линий у гибридов многие рецессивы окажутся прикрытыми доминантами.

Вторая гипотеза основана на предположении, что гетерозиготы по двум аллелям, например a_1 и a_2 , могут быть более «мощными», чем соответствующие гомозиготы a_1/a_1 и a_2/a_2 . Это, собственно говоря, более чем допущение, ибо, как мы уже отмечали, в некоторых сериях аллелей антиморфы дают в гетерозиготах такие фенотипы, каких на основании действия тех же аллелей в гомозиготах нельзя было бы ожидать. Вспомним также о действии псевдоаллелей в гетерозиготах. Кроме того, было найдено много крайних случаев комплементарного действия генов, на первый взгляд кажущихся аллельными и в гомозиготном состоянии обуславливающих явно мутантный фенотип, но в гетерозиготе дающих нормальный фенотип, характерный для доминантного аллеля. Мутантный ген кукурузы ug^2 в гомозиготном состоянии обуславливает появление желто-зеленых сеянцев, в комбинации же с мутантным аллелем *pale yellow* (*pu*) гетерозиготы оказываются зелеными. Объясняется это неожиданное взаимодействие между ug^2 и *pu*, по-видимому, тем, что *pu* связан с нехваткой (см. фиг. 66), не затрагивающей локус ug^2 .

Поскольку хромосома, несущая ru , содержит нормальный аллель Yg^2 , а хромосома ug^2 не имеет нехватки, то обе они дополняют друг друга и гетерозигота оказывается фенотипически нормальной.

Конечно, можно сформулировать и другие гипотезы для объяснения различных сторон гетерозиса. На основании того, что нам известно о взаимодействии генов, можно сказать, что число гипотез, которые можно было бы предложить для объяснения отдельных случаев, почти безгранично. Однако основной принцип всех этих объяснений неизбежно сводился бы к положению, что различные сочетания генов из одного и того же ограниченного источника дадут много различных фенотипов, гораздо больше, чем можно было бы ожидать, рассматривая действие каждого гена в отдельности независимо от результатов его взаимодействий.

Хотя экспериментальные биохимические данные относительно диплоидных растений и животных, необходимые для установления биохимической основы таких явлений, как гетерозис, в настоящее время отсутствуют, некоторые экспериментальные результаты, полученные на нейроспоре, могут в будущем пригодиться для объяснения этих явлений у высших форм [163, 166, 510]. Например, возможность того, что в некоторых случаях подавление служит причиной частичного или полного генетического блокирования, уже была показана на нейроспоре (стр. 229). Отсюда явствует, что снятие подобного подавления путем устранения подавляющего фактора у гетерозигот может служить одним из биохимических объяснений гетерозиса. Эмерсон [166] предложил основанные на данных по нейроспоре биохимические модели, иллюстрирующие некоторые дальнейшие биохимические возможности.

МОДИФИКАТОРЫ ПРОЯВЛЕНИЯ АЛЛЕЛЕЙ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Взаимоотношения между аллелями, в особенности в отношении доминирования, могут быть изменены в результате изменения генотипической среды. В связи с этим интересно заняться генами, регулирующими пигментацию цветков у *Dahlia*. Например, рассматривая вопрос о взаимном модифицировании активности генов A и I , влияющих на синтез антоциана и апегинина, мы видели, что в присутствии гена I ген A вызывает образование антоциана, присутствуя в значительно меньших дозах. Таким образом, I оказывает влияние на доминирование A над a . В свою очередь A в том же направлении влияет на I в отношении образования апегинина.

Существование модификаторов доминантности было показано также и у диплоидов, несмотря на то, что изменения дозирования генов, так легко осуществимые у полиплоидов в роде *Dahlia*, у них невозможны. Прекрасным примером может служить ген зачаточных крыльев *vestigial* (vg) у дрозофилы. Мутантные аллели локуса vg изменяют размеры и форму крыла. Было установлено, что доминантность vg^+ над vg и другими мутантными аллелями (vg^{po^2} ,

vg^{maw} и др.) может быть усилено ct^{do-vg} [207] и 2) [226]. Некоторые из них введены в табл. 43.

Влияние некоторых

vg, vg^+ в сочетании с	Нормальные мухи,
—	99,2
$M(2)l^2$	68,8
$M(1)n$	27,0
$M(3)w$	12,4

Аллели vg , подавляющие доминантность. Влияние *Minute* и ct^{do-vg} , гетерозигот с диким типом, на мутантного фенотипа. Влияние ct^{do-vg} как модификатора, усиливающего действие vg в отщепенных по ct^{do-vg} в отщепенных мухи *Minute* имеет значение для развития главным образом.

Исходя из этого, можно сделать вывод, что степень влияния отбором гетерозигот с диким типом, обусловленная окружающей средой. Это будет одним из типов для большинства культурных растений, таковые теперь более желательны.

Нет сомнения, вероятно, играющей также значительной роли в этом способностью генного продукта, особенно учитывая, что в основном говоря,

vg^{nw} и др.) может быть сильно ослаблена 1) аллелем локуса cut , cut^{do-vg} [207] и 2) рядом мутаций Minutes, $M(2)l^2$, $M(1)n$ и $M(3)w$ [226]. Некоторые данные, иллюстрирующие влияние Minutes, приведены в табл. 43.

Таблица 43

Влияние некоторых Minutes на доминирование vg^+ над своими рецессивными мутантными аллелями [226]

vg/vg^+ в сочетании с	Нормальные мухи, %	vg^{nw}/vg^+ в сочетании с	Нормальные мухи, %	vg^{no2}/vg^+ в сочетании с	Нормальные мухи, %
—	99,2	—	97,78	—	95,3
$M(2)l^2$	68,8	$M(2)l^2$	12,10	$M(2)l^2$	5,4
$M(1)n$	27,6	—	—	$M(1)n$	—
$M(3)w$	12,4	$M(3)w$	0,00	$M(3)w$	0,0

Аллели vg , подобно аллелям cut , характеризуются неполной пенетрантностью. Влияние на доминантность, оказываемое мутациями Minute и cut^{do-vg} , заключается в увеличении пенетрантности в гетерозиготах с диким типом и в усилении интенсивности проявления мутантного фенотипа. Поэтому эти модификаторы можно рассматривать как модификаторы доминантности аллеля дикого типа или же как усилители проявления мутантных аллелей. Мухи, гомозиготные по cut^{do-vg} в отсутствие аллелей vg имеют нормальный фенотип; мухи Minute имеют уменьшенные щетинки и более длинный цикл развития главным образом за счет удлинения личиночного развития.

Исходя из эволюционных соображений, Фишер [180] пришел к выводу, что степень доминантности гена обуславливается накапливаемыми отбором модификаторами, стремящимися сделать фенотип гетерозигот с другими аллелями равноценным фенотипу гомозиготного доминанта. При этом, конечно, подразумевается, что фенотип, обусловленный доминантом, лучше всего приспособлен к окружающей среде. Это законное допущение, если принимать теорию естественного отбора. Поэтому следует ожидать, что аллель дикого типа будет одним из доминантов в серии аллелей. Это справедливо для большинства случаев, за исключением одомашненных животных и культурных растений, у которых многие аллели дикого типа как таковые теперь невозможно обнаружить из-за искусственного отбора более желательных признаков, также наследующихся как доминанты.

Нет сомнения, что модификаторы доминантности существуют и, вероятно, играют некоторую роль в эволюции доминантности, но нельзя также забывать, что разница в силе аллелей в смысле присутствующей им способности производить больше или меньше первичного продукта представляет собой другой фактор, который необходимо учитывать при любом объяснении доминантности. Это, собственно говоря, лишь повторная констатация того факта, что фено-

Глава XI

ИЗМЕНЕНИЯ ФЕНОТИПА ПОД ВЛИЯНИЕМ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ

До сих пор мы интересовались главным образом фенотипическими изменениями, зависящими от мутаций. Однако генотипический контроль над фенотипом — это лишь одна из сторон развития последнего. Подобно тому как генные изменения изменяют внутреннюю среду клетки, а тем самым и фенотип, такое же влияние оказывают и внешние факторы. Однако существенное различие между этими двумя воздействиями заключается в том, что фенотипические изменения, вызванные внешними факторами, не наследуются, если только они не вызовут мутаций в генетическом материале. Эти наблюдения частично укладываются в следующую формулу: «Фенотип есть продукт взаимодействия среды и генотипа». Это очевидный вывод, следующий из того факта, что ни один организм не может существовать независимо от среды, часть которой составляет он сам. Организм существует за счет внешней среды и подвергается влиянию условий этой среды. Он должен приспособиться к этим условиям или погибнуть.

ПРЕВРАЩЕНИЕ «НОРМАЛЬНОГО» ФЕНОТИПА В «МУТАНТНЫЙ»

«Нормальный» фенотип — это фенотип, развивающийся в «нормальных» внешних условиях под контролем «нормального» генотипа, или генотипа дикого типа. В результате изменения среды то, что считалось «нормальным» при одних условиях, может измениться, и мы получим то, что «нормально» при новых условиях. Степень фенотипического изменения зависит от двух факторов: степени изменения внешних условий и реакции организма. Эта реакция определяется генотипом, причем, как мы увидим в следующем разделе, различные генотипы реагируют на одно и то же изменение среды по-разному.

Реакции организма на обычные изменения внешних факторов, которыми располагает экспериментатор (свет, температура, пища), хорошо знакомы последнему и обычны для организма. Эти реакции выражаются в изменениях скорости роста, размеров, пигментации и т. д.; если же внешнее изменение было очень резким, оно может привести к гибели. Часто эти изменения (за исключением гибели) обратимы. С восстановлением первоначальных условий восстано-

ливается исходный фенотип. Однако, используя специальную методику, фенотип организма можно изменить таким образом, что он останется измененным и будет напоминать один из мутантных фенотипов, которые при нормальных условиях могут возникнуть только под влиянием мутантного генотипа. Мутантные фенотипы, полученные таким образом у генотипически нормальных организмов, называются *фенокопиями*.

Гольдшмидт [208] получил ряд фенокопий у *Drosophila melanogaster* дикого типа, подвергая мух температурным шокам (35—37°) разной продолжительности на разных стадиях личиночного развития. В некоторых случаях взрослые мухи, развившиеся из подвергнутых температурному воздействию личинок, были чрезвычайно похожи на тех или иных из известных мутантов. Некоторые фенокопии, полученные Гольдшмидтом, приведены в табл. 44.

Таблица 44

Примеры фенокопий, полученных у *D. melanogaster* под действием высоких температур [208]

Полученный фенотип	Период развития, когда произведено воздействие, дни	Примененная температура, °C	Экспозиция, часы	Фенокопии, %
Scalloped	4½—5½	35	12—24	70
Curly	6—7	35—37	18—24	76
Spread	5½	35	18—24	91
Trident	7	35—37	6—24	82

Высокая температура — не единственный фактор, могущий вызывать фенокопии. Добавляя в корм личинок сублетальные дозы цианида, солей серебра, хинона и их производных, Рапопорту [502, 503] удалось вызвать у взрослых мух ненаследственные фенотипические модификации, которые опять-таки оказались поразительно сходными с наследственными мутантными фенотипами, заведомо обусловленными мутациями отдельных генов.

Генетически обусловленные мутантные фенотипы также можно видоизменить в направлении дикого типа. Много примеров этого уже было приведено при описании реакции мутантов, нуждающихся в определенных элементах питания, на необходимые им соединения, а также изменении окраски глаз мутантов *D. melanogaster* вследствие пересадки им нормальных тканей или добавления активного соединения в пищевую среду. Частичное голодание гомозиготных личинок *vermilion D. melanogaster*, обычно не вырабатывающих бурый пигмент, приводит к тому, что они начинают синтезировать значительные количества этого пигмента, и, следовательно, к развитию фенотипически нормальных мух [36, 636].

Эти примеры подчеркивают очень большую пластичность фенотипа и показывают, что его можно определить, только учитывая как

генотип, так и внешние условия. Это важное обобщение можно еще больше подкрепить рассмотрением некоторых своеобразных мутантов, значительно более чувствительных к внешним факторам, в частности к температуре, чем «нормальные» мутанты и особи дикого типа.

АЛЛЕЛИ, «ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ» К ТЕМПЕРАТУРЕ

Степень пигментации многих животных может значительно изменяться в зависимости от температуры, в которой они развиваются и живут. Хорошо известными примерами этого явления могут служить некоторые виды кроликов, ласок и других животных, с наступлением холодов сменяющих темную шерсть на светлую. Механизм этого процесса сложен и связан с изменениями активности эндокринных желез в разные времена года. Обычно кратковременное изменение температуры не влияет или почти не влияет на шерсть большинства животных, и лишь постепенные и продолжительные изменения приводят к описанным последствиям. Однако существует порода домашнего кролика, называемая гималайской, которая в отличие от других пород крайне чувствительна к температуре. Гималайские кролики, выращенные при комнатной температуре (около 22°), имеют белый мех и черные пятна на выступающих частях тела: уши, передние лапы, хвост и нос у них темные, все прочие части тела — белые (фиг. 84, Б). Если не поддерживать температуру относительно постоянной, то окраска упомянутых частей изменчива. Если кожу кролика на любом участке тела охладить до температуры ниже 34°, то в этой части образуется меланин (фиг. 84, В). Если же температуру любого участка тела, включая выступающие части, поднять выше 34°, то вырастающая на нем шерсть оказывается лишенной пигмента (фиг. 84, А). Таким образом, характерная гималайская окраска кроликов, развивающихся при обычных температурных условиях, объясняется тем, что температура выступающих частей тела бывает ниже, чем в остальных его частях, где кровоснабжение лучше и где она в норме выше 34°. Неоднородность окраски в данном случае обуславливается температурой, а не действием автономных факторов, контролирующих распространение окраски, что чаще наблюдается в отношении пигментации млекопитающих.

Гималайская порода отличается от других цветных вариететов одним геном, a^h , относящимся к альбинотической серии. Эта серия, вполне аналогичная ранее рассмотренным сериям морской свинки и мыши, состоит из четырех аллелей: A — полная пигментация, a^{chi} — шиншилла, a^h — гималайская окраска и a — альбиносы. Лишь животные, гомозиготные по a^h , и гетерозиготы a^h/a реагируют на изменения температуры.

Изучение ферментов, содержащихся в экстрактах из кожи гималайских кроликов, указывает на наличие по крайней мере двух фаз или реакций, связанных с выработкой меланистического пигмента [129]. Первая фаза протекает в анаэробных условиях и лишь

при температурах ниже 34° . Оптимальной является температура в 25° . Эта фаза, вероятно, связана с выработкой фермента, который в следующей фазе превращает предшественника меланина в меланин. Во второй фазе вырабатывается меланин, для чего, как и следовало



Фиг. 84. Фенотип гималайских кроликов при различных температурах [129].

А — кролик, выращенный при температуре выше 30° ; Б — кролик, выращенный при температуре около 25° ; В — кролик, у которого участок кожи на левом бедре охлаждали при температуре ниже 25° .

ожидать, требуется кислород. Согласно Дэннису [129], гималайские кролики отличаются от прочих именно первой, или анаэробной фазой, поскольку в экстрактах из кожи других пород далеко не достигается такой высокой температурной чувствительности. По-видимому, существует прямая связь между присутствием аллеля a^n и выработкой фермента, поскольку активные экстракты из животных a^n/a^n примерно на 30% активнее экстрактов из животных a^n/a .

Сходное влияние температуры на образование фермента, катализирующего синтез меланина у нейроспоры, обнаружили Горовиц и Шенг [296]. У некоторых штаммов этого организма при 35° активности тирозиназы не обнаруживается или почти не обнаруживается, тогда как при 25° этот фермент имеется. Анализ разных диких линий нейроспоры показал также, что они различаются в отношении термостабильности тирозиназы, обнаруживаемой у них при 25° . Оказалось, что эта разница в термостабильности наследственна и обусловлена парой аллельных генов, представляя собой, таким образом, еще один пример различия в белках, вызванного изменением одного-единственного гена [292].

Значительное число различающихся пищевыми потребностями мутантов нейроспоры чувствительны к изменениям температуры. При одних температурах они нуждаются в добавлении к минимальной среде роста веществ, при других — не нуждаются. На

фиг. 52 приведены температуры, при которых рост мутанта прекращается при стимуляции роста характерная для рибофлавина на 20% вине, мутант синтезирует небольшое количество (0,3 мкг/мл). После этого лимитирующее вещество, что лимитирует выработку рибофлавина выше 28° мутант не может расти.

В предположении, что в пиримидине [30] при температуре (табл. 45) даются в источнике, растёт без пиримидина, в котором количество, для своего роста, в обеих этих темпе-

Потребности
Neuro

шта

373

378

676

Многие мутанты, проявляющие полную пенетрантность, не регулируются в серии аллелей. В серии выраженных [256—258] при

фиг. 52 приведены некоторые данные относительно чувствительного к температуре рибофлавинового мутанта, показывающие, что в отсутствие рибофлавина при температуре ниже 25° интенсивность роста этого мутанта приближается к интенсивности роста дикого типа, но что выше этой температуры рост резко замедляется и полностью прекращается приблизительно при 28° . Добавление рибофлавина стимулирует рост при температурах выше 25° , а интенсивность роста, характерная для дикого типа, достигается при добавлении $5 \mu\text{г}$ рибофлавина на 20 мл среды. Несмотря на потребность в рибофлавине, мутант синтезирует его при температурах ниже и выше 28° ; однако при температурах выше 28° необходимо дать толчок росту добавлением небольшого количества рибофлавина (приблизительно $0,3 \mu\text{г}/\text{мл}$). После этого мутант растет неравномерно. Создается впечатление, что лимитирующими факторами являются в данном случае выработка рибофлавина и его использование. При температурах выше 28° мутант не способен синтезировать рибофлавин и одновременно расти.

В предполагаемую серию мутантов нейроспоры, нуждающихся в пиримидине [302], входят два аллеля, чувствительных к температуре (табл. 45). Штаммы 37815 и 67602 при температуре 35° нуждаются в источнике готового пиримидина, но при 25° штамм 37815 растет без пиримидина, а штамм 67602 требует его в гораздо меньшем количестве, чем при 35° . Аллельный штамм 37301 нуждается для своего роста в одной и той же концентрации пиримидина при обеих этих температурах.

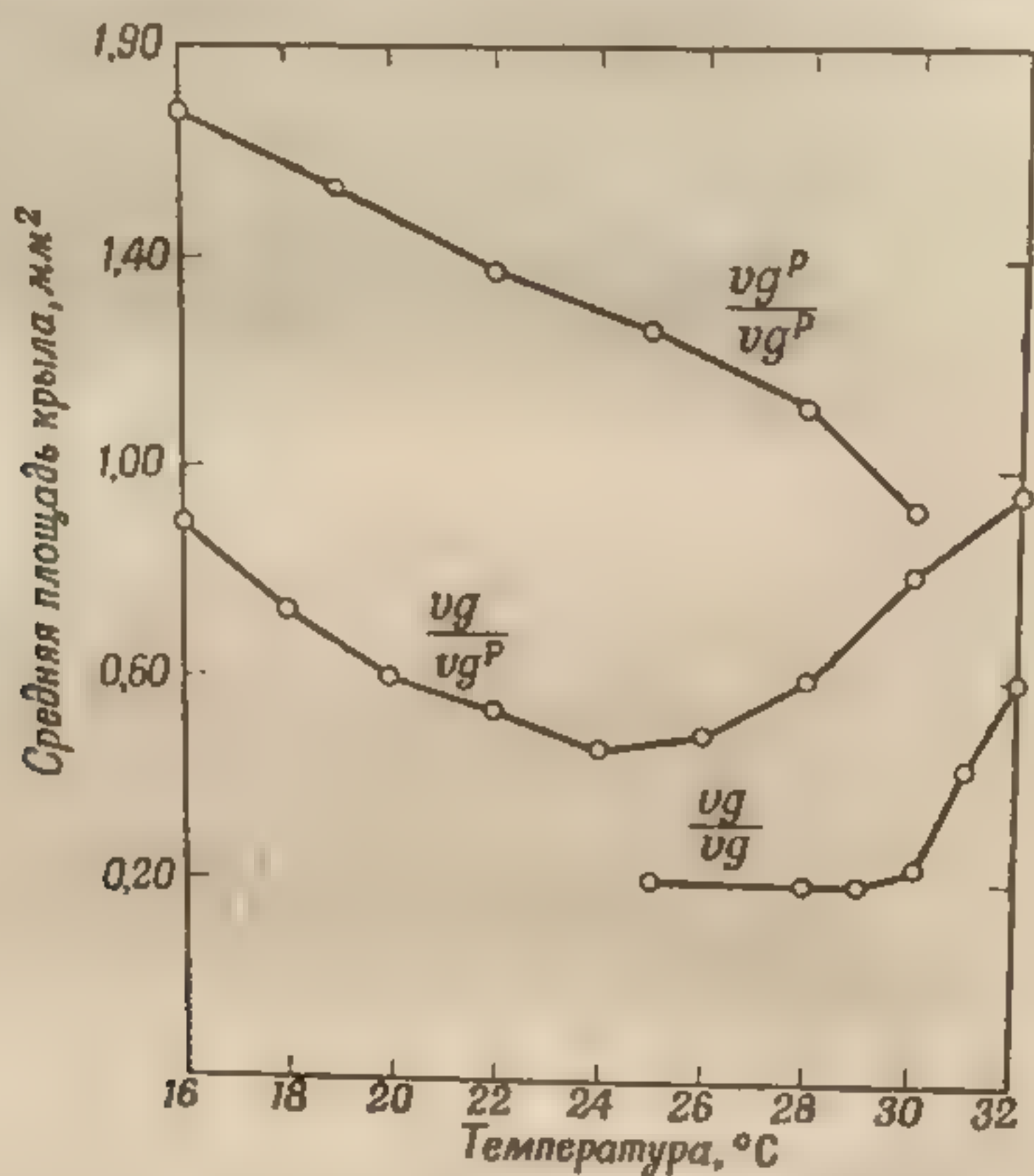
Таблица 45

Потребность в пиримидине трех аллельных штаммов *Neurospora crassa* при различных температурах

Штамм	Содержание гидролизованной РНК, необходимое для достижения половины максимального роста, $\mu\text{г}$ на 20 мл	
	при 25°	при 35°
37301	3,3	3,2
37815	0	2,4
67602	0,38	2,3

Многие мутантные гены дрозофилы характеризуются очень изменчивым проявлением. Это относится, в частности, к генам с неполной пенетрантностью, как например *cubitus interruptus*, уже упоминавшийся выше (см. стр. 237). Если в экспериментах с серией *ci* не регулировать строго температуру, то от опыта к опыту будет наблюдаться большая разнотой в фенотипических соотношениях. В серии аллелей *vg* (см. стр. 291) также есть члены, фенотипическое выражение которых чувствительно к температуре. Харнли [256—258] провел большую серию исследований по влиянию тем-

пературы на фенотипическое выражение аллелей vg и vg^P (reppant). На фиг. 85 показаны результаты воспитания мух генотипов vg^P/vg^P , vg^P/vg и vg/vg при температурах от 16 до 32°. Действие каждого генотипа определялось путем измерения площади крыла. Кривая выражения гомозиготного реппант, отражающая уменьшение площади крыла в интервале изученных температур, почти параллельна кривой дикого типа, и в этом смысле vg^P не более чувствителен к температуре, чем vg^+ . Однако на гетерозигот vg^P/vg температура оказывает значительное влияние. Гомозиготные vg изменяются лишь



Фиг. 85. Влияние температуры на площадь крыльев самцов *Drosophila melanogaster* генотипов vg^P и vg [258].

при температурах выше 29°; при этих условиях мухи vg/vg приближаются по фенотипу к мухам дикого типа. Однако чувствительный интервал у мух vg узок, так как при температурах выше 32° гомозиготные мухи vg не развиваются. Соответствующее летальное действие температур, не летальных для дикого типа, отмечено также и в отношении мух vg^P/vg^P . Они не развиваются при температурах выше 30°. Аналогичная крайняя зависимость от температуры была отмечена у мутантов дрозофилы *Var* [272] и аллеля *blood* (w^{bl}) из серии *white* [171] (см. также фиг. 88).

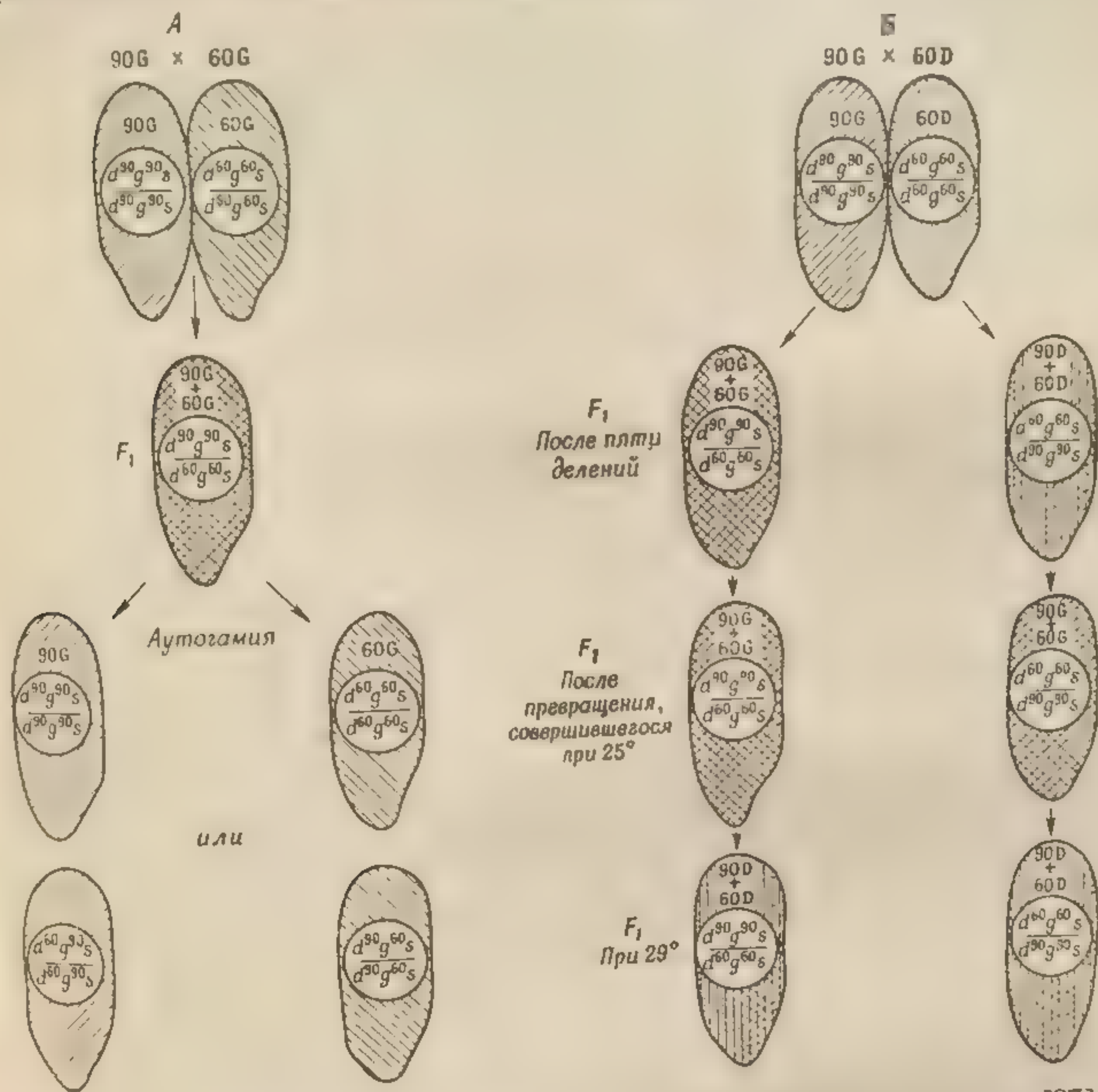
Все эти данные ясно показывают, что существуют большие различия в зависимости фенотипического выражения разных генов от изменений внешних условий. Кроме того, очевидно, что крайняя чувствительность не обязательно является общим свойством групп аллельных генов, сходных в отношении своего фенотипического действия, но характеризует определенные гены в пределах аллельных серий.

ТРАНСФОРМАЦИЯ СЕРОТИПОВ У *Paramecium aurelia*

Если ввести кролику парамеций, то он вырабатывает антисыворотку, лишаящую подвижности парамеций линии, использованной в качестве источника антигенов. По-видимому, активные антигены находятся в ресничках, так как антисыворотка парализует реснички. Соннеборн [572, 573] и Бил [37] вывели гомозиготные штаммы *Paramecium aurelia* и показали, что данная гомозиготная линия, видимо, вырабатывает в каждый данный момент ресничный антиген лишь одного типа. Какой именно вырабатывается антиген — зависит от условий в культуре и от предшествующей истории линии. Например, Соннеборн показал, что штамм 51 разновидности 4 *Paramecium aurelia* может быть одного из следующих антигенных типов, или серотипов: А, В, С, D, Е, G, H и S. Культура одного из этих серотипов может сохранять свою антигенную специфичность на протяжении многих вегетативных делений и проходит конъюгацию, если условия температуры и питания остаются относительно постоянными и оптимальными для данного серотипа. Серотипы А, В и D штамма 51 поддерживались неизменными при температуре 26° в течение более чем четырех лет [575]. Однако посредством различных внешних воздействий, например изменения температуры, изменения питания, действия сублетальными дозами специфической для данного серотипа антисыворотки и облучения ультрафиолетом [573], можно вызвать трансформацию серотипов. Так, серотип А можно превратить в серотип В, понизив температуру до 19°. Однако, установившись, серотип В сохраняется, если условия культуры постоянны, но эта трансформация обратима, так как В можно вновь превратить в А. Опыты скрещивания убедительно показали, что трансформация не сопровождается генетическими изменениями, но что, по-видимому, парамеции одного и того же генотипа могут обладать любым из перечисленных выше семи серотипов.

С целью расширения вышеописанных наблюдений Соннеборна на разновидности 4 Бил [37] тщательно изучил четыре гомозиготных штамма разновидности 1 *P. aurelia*, собранных в различных областях Северной Америки. Каждая из линий 90, 60, 41 и 61 разновидности 1 была маркирована тремя разными локусами, фенотипически различимыми по разным серотипам S, G и D. Конкретные антигенные свойства любой из этих линий зависели от температуры. При 18° особи, составляющие популяцию, имели преимущественно серотип S, при 25° — G, а при температурах от 29 до 36° — D (фиг. 86). Эти превращения в большинстве случаев легко обратимы, но происходят лишь после ряда делений при новой температуре. В штамме 90 серотип G превращается в D при повышении температуры до 29°, но трансформация оказывается полной лишь после 50 делений (10 дней). Само по себе превращение происходит довольно внезапно — на протяжении двух делений. До этого инфузории имеют серотип G. В течение краткого переходного периода клетки реагируют как с антигеном G, так и с антигеном D, но

мер, в F_2 от скрещивания штаммов $90G \times 60G$ в результате перекомбинации появляются формы с генотипом $\frac{d^{60}g^{90}s}{d^{60}g^{90}s}$. При 25° они имеют серотип $90G$, но при 29° уже не $90G$, а $60D$.



Фиг. 87. Результаты скрещиваний парамеций различных серотипов [37].

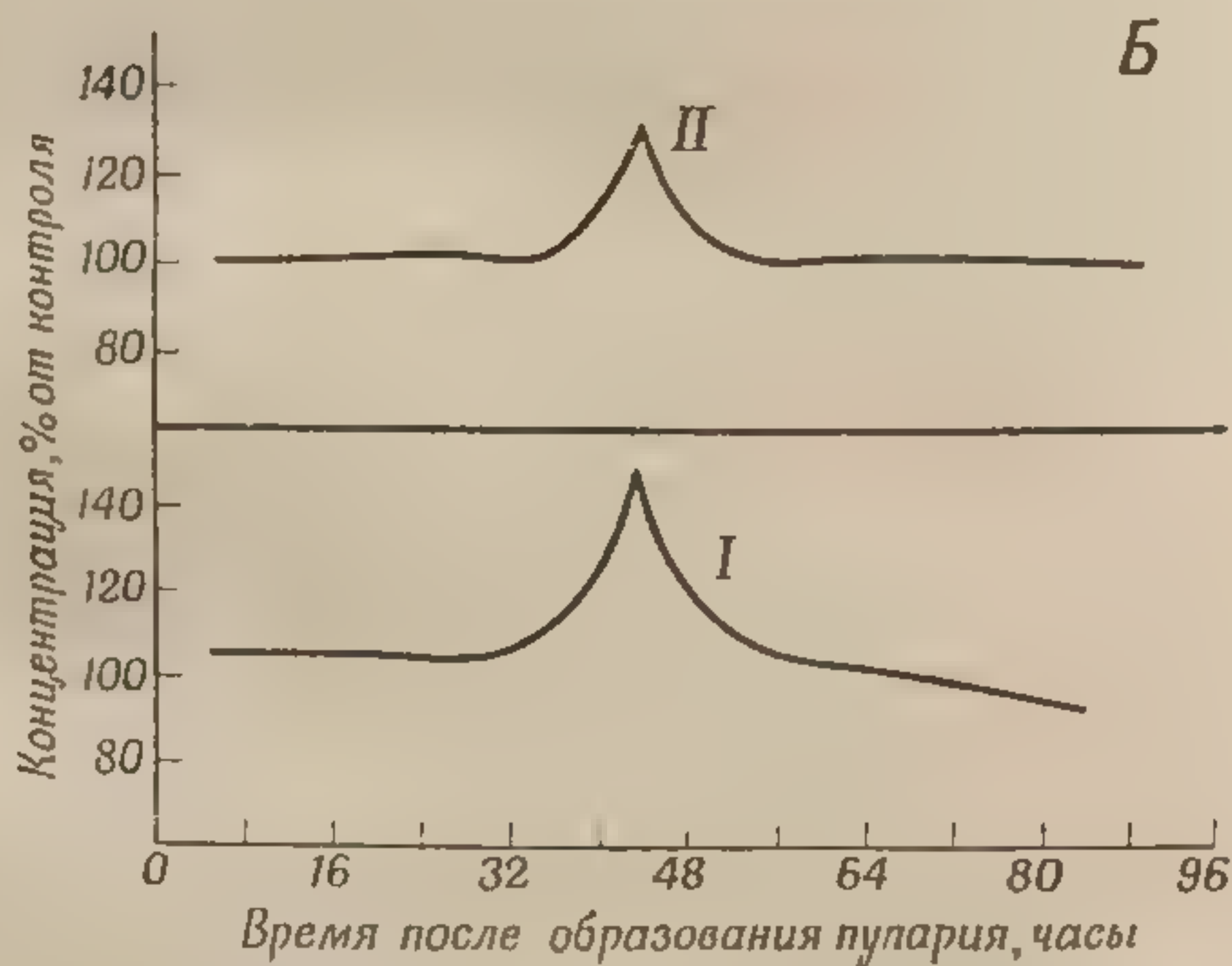
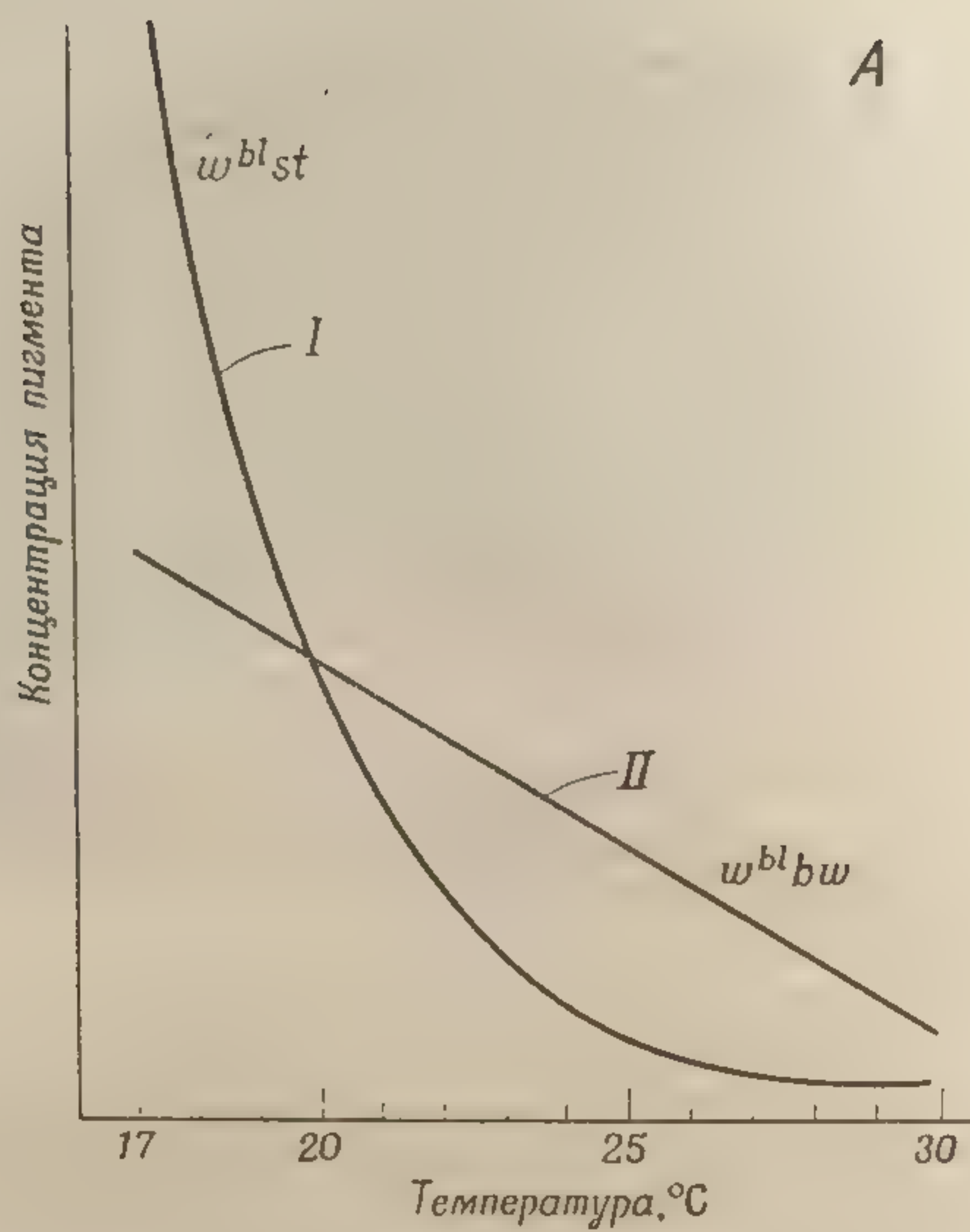
На фиг. 87 представлены дальнейшие результаты скрещиваний, показывающие, что наблюдается у гетерозигот. Если особи $90G$ скрещены с особями $60G$ [37], то гибриды F_1 после нескольких делений при 25° обнаруживают оба серотипа — $90G$ и $60G$. Интересно, что действие парализующих антисывороток $90G$ и $60G$ на гетерозиготах проявляется не столь ярко, как на соответствующих гомозиготных родителях. Это можно объяснить, предположив, что у гетерозигот вырабатывается то же общее количество антигена типа G , что и у гомозигот, но что каждого специфического типа оказывается меньше. Здесь мы имеем еще одно доказательство справедливости положения, что количество генного продукта зависит от дозы гена. Вызывая у гетерозигот аутогамию — особого типа внутриклеточный

фенотипического проявления vestigial. Изменение фенотипа vestigial (зачаточные крылья), вызванное у мух *vg/vg* температурой от 30 до 32°, оказывается наиболее резко выраженным, когда влиянию повышенной температуры подвергаются воспитывавшиеся при оптимальной температуре ($\sim 25^\circ$) личинки в начале третьего возраста, т. е. приблизительно через 64 часа после вылупления [256, 258]. Воздействие температурными шоками до начала третьего возраста не влияет на выражение гена *vg*. Следовательно, третий возраст является чувствительным периодом в отношении выражения гена *vg*.

Фенотипическое выражение аллеля *white*, w^{bl} , также зависит от температуры, причем определяется в известный чувствительный период [171]. Гомозиготные мухи w^{bl} при 30° имеют светло-коричневые глаза, а при 17° — темные красно-пурпурные. Изменения касаются как бурого, так и красного пигментов (фиг. 88, А). Чувствительный к температуре период приходится на стадию куколки и наступает приблизительно через 40—48 час. после начала окукливания (фиг. 88, Б). Воздействие низкой или высокой температурой на воспитывавшихся при 25° личинок любого возраста, а также на молодых или старых куколок не влияет на цвет глаз.

Существование в развитии многоклеточных дифференцированных организмов чувствительных периодов, в течение которых с наибольшей легкостью вызываются некоторые фенотипические модификации, представляет собой существенный факт, который мы обсудим в гл. XIII. В точности такое же явление наблюдают эмбриологи-экспериментаторы, которые вызывают изменения дефинитивной формы организмов, нарушая ход развития зародыша химическими воздействиями, трансплантациями или физическим травмированием. При этом в зависимости от стадии развития, на которой производится воздействие, получают различные типы ненормальностей. Однако генетические наблюдения дополняют эмбриологические, показывая, что степень чувствительности организма, отвечающего фенотипическими изменениями на воздействия в определенные периоды развития, заметно изменяется в зависимости от генотипа.

Гольдшмидт [208] пытается поставить знак равенства между влиянием внешних факторов, вызывающих фенотипические изменения при воздействии в определенные периоды развития, и действием генов, обуславливающих данный фенотип. В заключение своего анализа фенокopies он пишет: «... процессы, лежащие в основе возникновения фенокopies, те же, которые возбуждаются мутантными генами». Это дальнейшее развитие его «концепции скорости», согласно которой роль генов заключается в регулировании скоростей реакций, а следовательно, и развития. Совершенно очевидно, что гены, как и температура, контролируют скорости реакций вследствие своего несомненного влияния на синтез и активность ферментов, но нам совершенно неизвестен механизм этого их влияния. Поэтому нет оснований заключить, что процессы, происходящие при изменении фенотипа под влиянием внешних условий, идентичны процессам, вызываемым генными мутациями.



Ф и г. 88. Влияние температуры на образование красного (I) и бурого (II) пигмента у особей *Drosophila melanogaster*, гомозиготных по *wbl* [171].

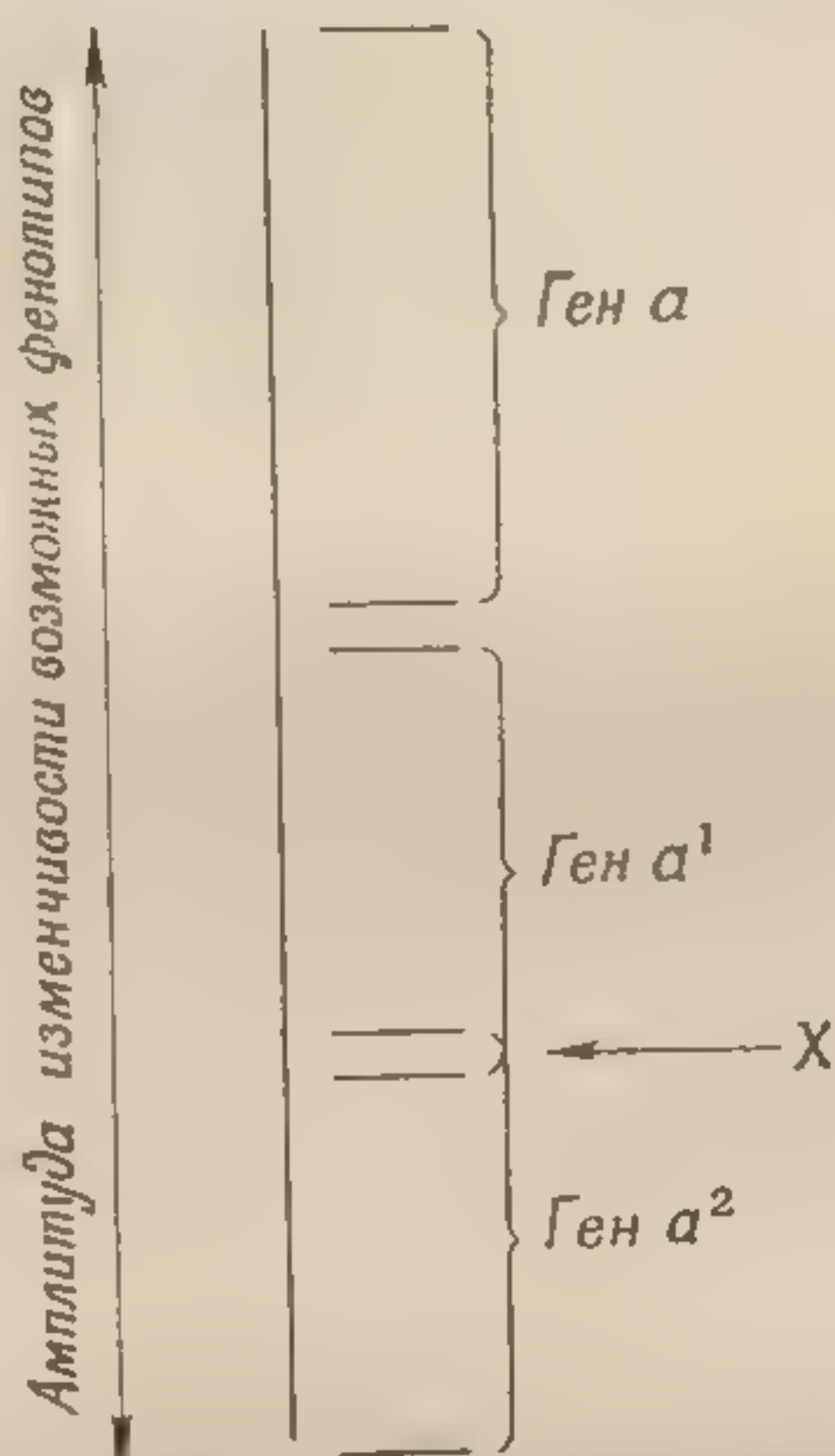
А — концентрация пигментов у взрослых мух blood, личинки которых воспитывались при указанных температурах; Б — концентрация пигментов у взрослых мух blood, личинки которых воспитывались при температуре 25°, но подвергались воздействию температуры в 17° в течение 8 час. Обратите внимание на то, что чувствительный в отношении образования пигмента период приходится на стадию куколки (40—48 час. после начала окукливания).

Остатком факта
ды на фенотипичес
различное реактиро
факт лег в основу
ласно которому
выражении генотипа
доть лишь в пре
ных этому генотип
это представление
фически. Гены а
смаивать как а
ческие эффекты к
рых имеют свою
чивости и не на
на друга. Конкретн
эффект каждого и
внешних условий,
известных условия
трангрессии не на
ром подобной ситуа
многие аллеломорф
автономны в сво
фенотипически не
каковы бы ни был
С другой стороны
типического выра
заходят одна за др
торых внешних ус
пические выраже
венны. Изоаллел
с¹·2 и с¹·3 из с
гиртис (см. стр.
все мутантные ге
эффект которых
них условиях тр
типом соответств
как гены с захо
Представлении
вания того, что
не действует сам
дой: непосредс
венно с внешне
под действием в
генов должны и
ственной ему
число возможн

ГЕНОТИП КАК НОРМА РЕАКЦИИ

Основным фактом, установленным в опытах по влиянию среды на фенотипическое выражение разных генотипов, является различное реагирование разных генов на внешние стимулы. Этот факт лег в основу представления о *норме реакции* [317, 701], согласно которому все изменения в выражении генотипа могут происходить лишь в пределах, свойственных этому генотипу. На фиг. 89 это представление изображено графически. Гены a и a^1 можно рассматривать как аллели, фенотипические эффекты каждого из которых имеют свою амплитуду изменчивости и не накладываются друг на друга. Конкретный фенотипический эффект каждого из них зависит от внешних условий, но ни при каких известных условиях фенотипической трансгрессии не наблюдается. Примером подобной ситуации могут служить многие аллеломорфные гены, которые автономны в своем выражении и фенотипически не трансгредируют, каковы бы ни были внешние условия. С другой стороны, амплитуды фенотипического выражения генов a^2 и a^1 заходят одна за другую, и при некоторых внешних условиях их фенотипические выражения будут тождественны. Изоаллели, вроде аллелей ci^{+2} и ci^{+3} из серии *cubitus interruptus* (см. стр. 247), так же как и все мутантные гены, фенотипический эффект которых при известных внешних условиях трансгредирует с фенотипом соответствующих аллелей дикого типа, можно рассматривать как гены с заходящими друг за друга нормами реакции.

Представление о норме реакции чрезвычайно важно для понимания того, что имеется в виду под «действием гена». Ген никогда не действует сам по себе, будучи всегда связан с определенной средой: непосредственно — с внутриклеточной средой и более косвенно — с внешней. Очевидно, что изменения внутренней среды под действием внешних факторов или в результате действия других генов должны изменять выражение любого гена в пределах свойственной ему активности. Иными словами, генотип ограничивает число возможных фенотипов.



Фиг. 89. Пределы возможных фенотипических изменений в присутствии трех гипотетических аллельных генов, фенотипические выражения двух из которых (a^1 и a^2) при некоторых внешних условиях трансгредируют (в участке, указанном стрелкой X).

НАСЛЕДСТВЕННАЯ И НЕНАСЛЕДСТВЕННАЯ АДАПТАЦИИ И МЕТОДЫ ИХ РАЗЛИЧЕНИЯ

Способность приспособления к условиям среды всегда наследственна, но фенотип, возникающий в результате приспособления, может либо наследоваться, либо не наследоваться; таким образом, приспособление может привести как к наследственным, так и к ненаследственным изменениям. Наследственное приспособление это явление, наблюдающееся в *популяции*. Оно представляет собой результат реакции популяции организмов одного вида на изменение среды, направляется естественным отбором и приводит к закреплению генотипов, дающих наиболее приспособленные фенотипы. Существенно отметить, что фенотипический сдвиг в направлении большей приспособленности к среде всегда сопровождается *изменением генотипа*. Поэтому такое приспособление можно называть *генотипической адаптацией*. Очевидно, ее можно наблюдать лишь в активно размножающейся популяции, в которой может происходить отбор новых генотипов, возникающих в результате случайных мутаций или новых случайных сочетаний генов, создающихся в процессе полового размножения.

Ненаследственная *фенотипическая адаптация* представляет собой реакцию особи на воздействие среды, не сопровождающуюся изменением генотипа. Поэтому она едва ли может быть результатом мутации или отбора генетических элементов в ядре.

Обычно разграничить эти два понятия адаптации бывает нетрудно, и может показаться, что в приведенных выше определениях мы вдалились в чрезмерные академические тонкости. Когда мы имеем дело с крупными организмами, вроде кукурузы или дрозофилы, вопрос о происхождении индивидуальных фенотипических изменений легко решается опытами скрещивания. Однако при работе с микроорганизмами проводится более тщательное изучение, так как популяции не связанных между собой отдельных клеток или ядер приобретают наблюдаемый нами фенотип, выступая как единое целое. Если экспериментатор не имеет возможности наблюдать и скрещивать отдельные клетки, ему приходится устанавливать тип адаптации подчас весьма косвенными методами анализа.

Если мы имеем дело с микроорганизмом, у которого есть половой цикл, мы можем испытать возникающие отклонения путем скрещивания их с представителями исходного, неадаптированного штамма. Примером такого прямого подхода к решению вопроса может служить изучение адаптации нуждающегося в пантотеновой кислоте мутанта *Saccharomyces cerevisiae*, первоначально описанного Линдегреном и Линдегрен [380]. Если клетками этого штамма засеять среду, в которой совершенно отсутствует пантотеновая кислота, они могут оставаться живыми более месяца, но рост их будет настолько ничтожен, что в пробирках не появится заметной мути [505]. Однако в течение этого периода некоторые клетки приобретут способность синтезировать пантотеновую кислоту, размножаться и через несколь-

ко дней вызовут я
скрещиваний между
исходного неадапти
никающие в резуль
1:1 на нуждающихся
это служит доказат
мутационного возни
нение и последую
кислоты. Все не
испытанные Рауто
исходного штамма S
Отсюда следует, что
ций генов-супрессо
сутствующего в неа

Из приведенной
учитывать возмож
любом эксперимент
нения микроорга
клетки некоторых
оставаться живыми
приятных условия
при наличии вре
сохранением жизни
вления мутаций, де
необходимого соедин
жна быть обычно
щемуся у всех сп
супрессора. Вслед
адаптирующей кл
шается, поскольку
различных локусах

В связи с этим
нение может возн
фенотипический э
ловленным исходн
ться лучше присп
мутанты с измене
держивать свое
счет нужных им
их продуцируют
грибов, как нейр
могут существова
ляцию различных
При изменении
отношения между
сдвиг, который с
Эти наблюде
характер мутац

ко дней вызовут ясное помутнение среды. Генетический анализ скрещиваний между адаптировавшимися клетками и клетками исходного неадаптированного штамма показывает, что споры, возникающие в результате скрещивания, расщепляются в отношении 1 : 1 на нуждающихся в пантотеновой кислоте и независимых от нее ; это служит доказательством того, что адаптация есть результат мутационного возникновения способности синтезировать это соединение и последующего отбора в среде, лишенной пантотеновой кислоты. Все не нуждающиеся в пантотеновой кислоте клетки, испытанные Раутом [505], оказались отличающимися от клеток исходного штамма *S. cerevisiae*, способных синтезировать это вещество. Отсюда следует, что реверсии были, по-видимому, результатом мутаций генов-супрессоров действия гена «беспантотеновости», присутствующего в неадаптированном штамме.

Из приведенного анализа, показывающего, насколько важно учитывать возможность приспособления путем мутаций и отбора в любом эксперименте, в котором наблюдаются фенотипические изменения микроорганизмов, следует несколько выводов. Во-первых, клетки некоторых организмов могут в течение длительного времени оставаться живыми и обнаруживать лишь слабый рост в неблагоприятных условиях, например в неполноценной среде. Во-вторых, при наличии времени, которое обеспечивается этим длительным сохранением жизнеспособности, повышается вероятность возникновения мутаций, делающих возможным синтез отсутствующего, но необходимого соединения. В-третьих, мутация не обязательно должна быть обычной обратной мутацией к исходному гену, имеющемуся у всех способных к синтезу клеток, но мутацией гена типа супрессора. Вследствие этого вероятность возникновения мутации, адаптирующей клетку к неполноценной среде, теоретически повышается, поскольку оказывается возможным, что мутации во многих различных локусах приведут в общем к одинаковому результату.

В связи с этим следует также отметить, что генотипическое изменение может возникнуть мутационным путем в популяции, но его фенотипический эффект останется замаскированным фенотипом, обусловленным исходным доминантным генотипом, который может оказаться лучше приспособленным к окружающим условиям. Например, мутанты с измененными пищевыми потребностями легко могут поддерживать свое существование, удовлетворяя эти потребности за счет нужных им веществ, выделяемых в среду штаммами, которые их продуцируют. Аналогичное положение наблюдается у таких грибов, как нейроспора, которые обычно бывают многоядерными и могут существовать как стойкие гетерокарионы, содержащие популяцию различных ядер, симбиотически поддерживающих друг друга. При изменении внешних условий отбор может изменить взаимоотношения между различными генотипами и вызвать фенотипический сдвиг, который будет назван адаптацией.

Эти наблюдения ясно показывают, что, несмотря на случайный характер мутаций и редкость возможного мутирования каждого

отдельного гена в направлении повышения приспособленности организма к среде, адаптацию популяций клеток или ядер, как например у нейроспоры вследствие отбора мутаций, нужно считать весьма вероятным объяснением всех случаев фенотипического изменения.

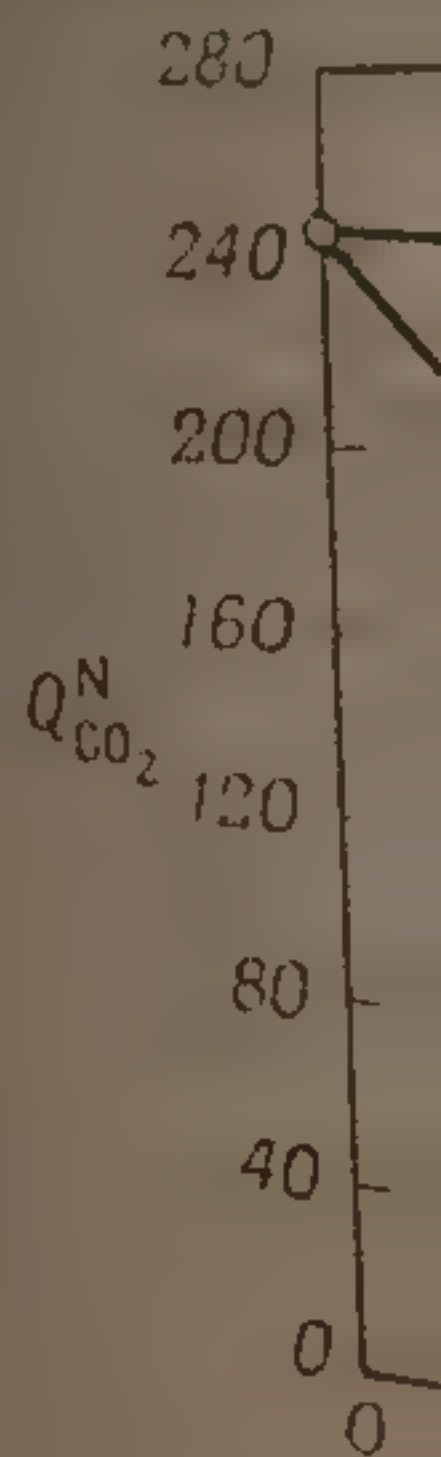
При работе с бесполоыми штаммами бактерий, часто используемыми для изучения адаптации, метод скрещивания применить нельзя и для разграничения фенотипической адаптации приходится полагаться на другие методы. В некоторых случаях, например, когда адаптация завершается у этих форм за несколько часов, указанием на чисто фенотипическую ее природу может служить быстрота адаптации, ибо трудно ожидать, чтобы приспособительные варианты могли достаточно размножиться за столь короткое время. Однако этот метод непригоден, если адаптация происходит медленно.

Другим указанием на фенотипическую природу адаптации служит способность утрачивать ее и возвращаться к исходному, неадаптированному состоянию при возвращении в первоначальные условия. Однако и это — не решающее доказательство наличия фенотипической адаптации в противоположность возникновению мутаций. Поясним это на конкретном примере, взятом из работы Райана и Шнейдера [532, 533]. Эти исследователи показали, что *E. coli*, нуждающаяся в гистидине, легко приспособляется к росту на лишенной гистидина среде, а при возвращении на гистидиновую среду столь же легко теряет свою приспособленность и возвращается к исходному состоянию. При помощи усовершенствованной методики рассева было показано, что потеря на безгистидиновой среде потребности в гистидине обусловлена мутациями и отбором и что частота возникновения у мутантов обратных мутаций к исходному, неадаптированному состоянию достаточно высока, чтобы этими мутациями можно было объяснить утрату приобретенной адаптации. Рост независимых от присутствия гистидина клеток, по-видимому, определенно подавляется в присутствии нуждающихся в этом соединении клеток. Эти неожиданные соотношения приводят к очень быстрому росту нуждающихся в гистидине мутантов на гистидиновой среде, что создает видимость утраты приобретенной адаптации чисто фенотипической природы.

Быстрое приспособление и способность к утрате приобретенной адаптации кажутся на первый взгляд доказательствами фенотипической природы адаптации, но ни один из этих моментов не является решающим доказательством. Они должны быть дополнены опытами, имеющими целью обнаружить способность к адаптации в отсутствие факторов, которые могли бы отбирать измененный или неизменный фенотип. Схема таких опытов была разработана Луриа и Дельбрюком [385], и как они сами, так и многие другие исследователи успешно пользовались ею для разграничения влияния мутаций и простой адаптации у микроорганизмов. Опыты ставятся таким образом, чтобы уловить возникновение адаптирующихся штаммов в отсутствие адаптирующего субстрата, поскольку очевидно, что если

подобное явление происходит при адаптации при работе с культурами, происходит ли это, происходит ли (например, появление нового субстрата) только все клетки в той же степени маловероятно, так как многие истинные мутации возникают. Следует обращаться к

Одним из наиболее вероятных, наиболее



Фиг. 90.
I — активная
тоже; III —

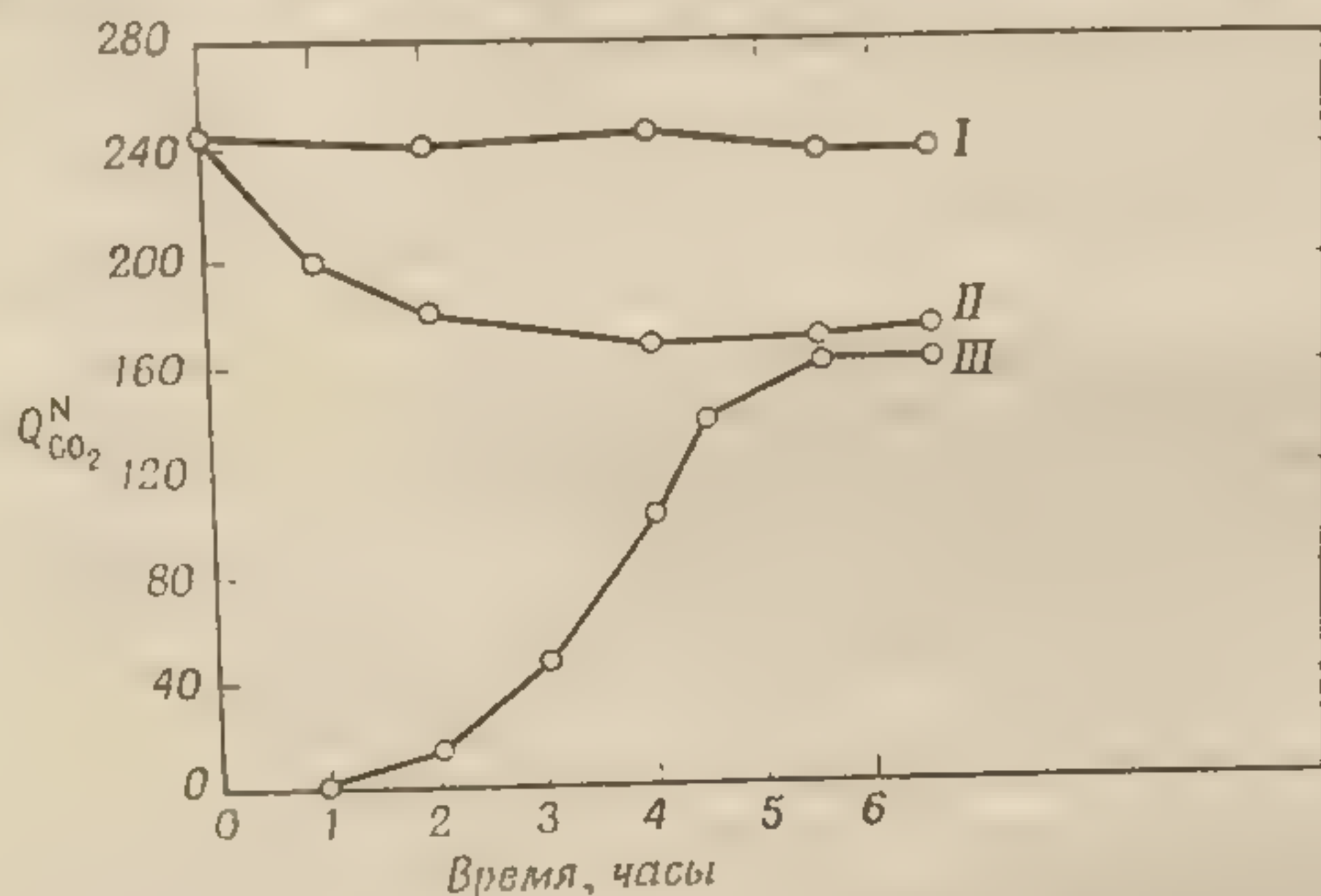
является ферментативная активность ранее не обнаруженный фермент. Фильтрация *S. cerevisiae* выращенных на углеводах клеток, выращенных

подобное явление происходит, то оно может быть только результатом мутаций.

Пожалуй, наиболее прямой метод установления причины адаптации при работе с микроорганизмами заключается в выяснении того, происходит ли фенотипическое изменение в неразмножающейся культуре. Изменения, происходящие в таких культурах (например, появление новой ферментативной активности в присутствии нового субстрата), не могут зависеть от мутаций, если только все клетки в популяции не мутируют одинаково, что в высшей степени маловероятно. Однако этот метод не всегда применим, так как многие истинные фенотипические адаптации у микроорганизмов возникают лишь в растущих культурах. В этих случаях следует обращаться к другим описанным выше методам.

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АДАПТАЦИЯ

Одним из наиболее интересных и с биохимической точки зрения, пожалуй, наиболее важных примеров фенотипической адаптации



Фиг. 90. Адаптация дрожжей к сбраживанию галактозы в присутствии галактозы [583].

I — активность глюкозидомы в неадаптирующемся контроле; II — активность глюкозидомы в дрожжах, адаптирующихся к галактозе; III — активность галактозидомы в дрожжах, адаптирующихся к галактозе.

является ферментативная адаптация, при которой организм проявляет ранее не обнаруживавшуюся в нем специфическую ферментативную активность в присутствии субстрата, на который действует данный фермент. Фиг. 90 иллюстрирует адаптацию дрожжей *S. cerevisiae* к ферментации галактозы в присутствии этого сахара. Обычно *S. cerevisiae* выращивают на среде, содержащей в качестве доступного углевода глюкозу, которую дрожжи легко сбраживают. Если клетки, выращенные на глюкозе, отмыть от глюкозы и перенести в

безазотную среду, содержащую галактозу, то они не размножаются но после лаг-периода, продолжающегося несколько часов, начинают сбраживать галактозу. В течение лаг-периода клетки, видимо, перестраивают свой гликолитический механизм, настроенный на глюкозу, на сбраживание галактозы, синтезируя «галактозимазу». Это явление представляет собой адаптацию клеточных систем к использованию определенного субстрата — галактозы, а не результат отбора мутантов, возникающих из клеток, сбраживающих глюкозу, о чем свидетельствуют следующие наблюдения: 1) адаптация происходит в суспензиях покоящихся клеток, в которых размножение клеток невозможно вследствие отсутствия источника экзогенного азота; 2) адаптация происходит только в присутствии галактозы; 3) суспензии покоящихся клеток, приспособившиеся к использованию галактозы, в присутствии глюкозы легко теряют эту адаптацию и поэтому вновь оказываются способными сбраживать галактозу только после обычного лаг-периода.

Из нескольких возможных объяснений причин описанной фенотипической адаптации дрожжей кажутся наиболее вероятными следующие: 1) клетки отвечают на присутствие галактозы синтезом специфического фермента или набора ферментов, в совокупности называемых галактозимазой и необходимых для сбраживания галактозы (галактозимаза, в сущности, состоит из двух или большего числа ферментов; см. стр. 191); 2) галактозимаза всегда имеется в клетках, но последние после роста на глюкозе бывают непроницаемы для галактозы и в течение лаг-периода должны изменить свою проницаемость, чтобы галактоза могла в них проникнуть. Неверность второго объяснения и большая вероятность первого доказывается тем, что бесклеточные экстракты из клеток, выращенных на глюкозе, не проявляют галактозимазной активности и галактозимаза обнаруживается лишь в экстрактах клеток, адаптированных к галактозе.

Дальнейшее доказательство того, что активность адаптивного фермента возрастает вследствие его синтеза из неактивных предшественников, а не просто в результате выявления активности уже существующего фермента, дают исследования адаптации *Escherichia coli* к гидролизу β -галактозида [113]. В присутствии мелибиозы в *E. coli* менее чем через час обнаруживается заметная активность β -галактозидазы (фиг. 91). Это увеличение активности сопровождается эквивалентным увеличением титра антигена Gz. Этот антиген является ферментом или тесно связан с ним, так как высоко очищенный препарат фермента вызывает образование антитела, специфически связывающего фермент из адаптированных клеток. Фиг. 91 показывает тесное соответствие между увеличением активности фермента и титром антигена. Поскольку нет указаний на присутствие антигена Gz в неадаптированных клетках, постольку эти данные можно рассматривать как доказательство связи описанной ферментативной адаптации с синтезом белка.

У микроорганизмов известны и многие другие примеры адаптации

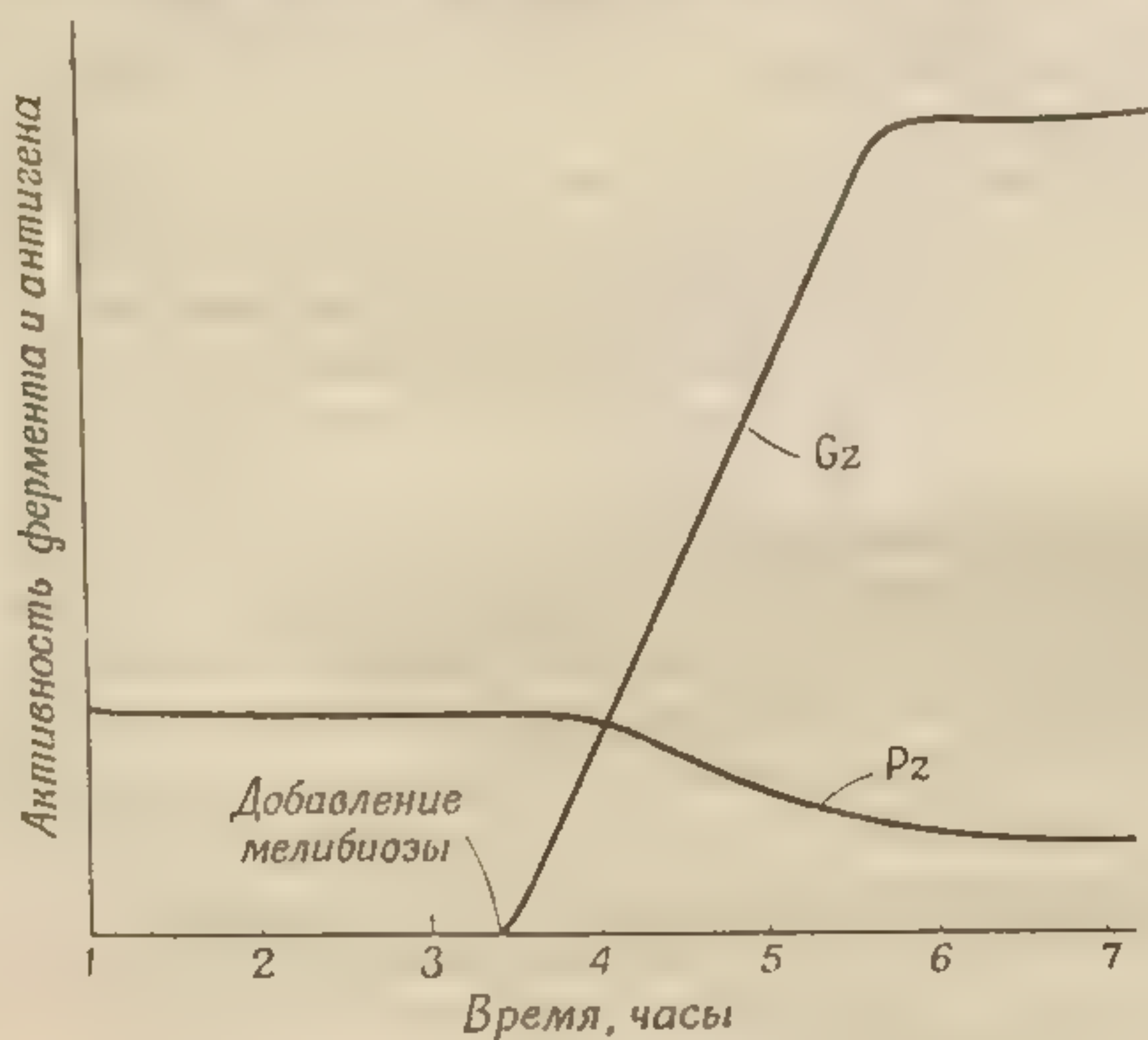
к субстрату. Лучшее в
скового фермента в ответ
которых случаях фер
сутствии субстрата ли
многие из этих случаев
показало применение

Активность фермента и антигена

Фиг. 91.

Не все исследовате
ческий анализ, и м
санные в литератур
необходимого для р
адаптации, нельзя
подчеркивалось в
ческих признаков
тывать естественн
ферментативна
ший большое тео
между генами и ф
некоторых фермен
субстратов, то к у
ленного фермента
следует добавить
Наряду с уг
генов изучение ф
расширило пони
цессе адаптации.
позволили уста
скольких парно

к субстрату, лучше всего объясняющиеся выработкой специфического фермента в ответ на присутствие этого субстрата [435]. В некоторых случаях ферментативная активность возникает в присутствии субстрата лишь в растущих клеточных суспензиях. Однако многие из этих случаев нельзя объяснить мутациями и отбором, как показало применение методов, описанных в предыдущем разделе.



Фиг. 91. Адаптивное образование β -галактозидазы у *E. coli* [113].

Не все исследователи проводили в своих опытах строгий генетический анализ, и многие примеры ферментативной адаптации, описанные в литературе, из-за отсутствия экспериментального контроля, необходимого для разграничения эффекта мутаций и фенотипической адаптации, нельзя отнести ни к одной из этих категорий. Как уже подчеркивалось выше, при изучении адаптации любых фенотипических признаков в больших популяциях всегда необходимо учитывать естественный отбор и возникновение мутаций.

Ферментативная адаптация — установленный факт, приобретающий большое теоретическое значение в свете несомненной связи между генами и ферментами. Очевидно, что если наличие хотя бы некоторых ферментов зависит от предварительного присутствия их субстратов, то к утверждению о том, что для существования определенного фермента необходимо наличие определенного генотипа, следует добавить «и наличие субстрата».

Наряду с углублением наших знаний о механизме действия генов изучение ферментативной адаптации существенным образом расширило понимание изменений, происходящих в клетках в процессе адаптации. Уже первые работы по ферментативной адаптации позволили установить, что при одновременном присутствии нескольких равноценных в метаболическом отношении субстратов,

например сахаров, служащих источниками энергии, эти субстраты используются не обязательно одновременно [140]. Так, в присутствии глюкозы и сорбита *Escherichia coli* использует сначала глюкозу, а затем приспосабливается к использованию сорбита [434]. На кривых роста обнаруживается первоначальный период роста, связанный с использованием только глюкозы, затем лаг-период и, наконец, второй период роста, в течение которого из среды исчезает сорбит. Из-за этого двухступенчатого характера кривой явление получило название *диауксии*.

Первоначально диауксию объясняли прямым подавлением одним субстратом использования другого, однако прямых доказательств этого не получено. Вторая очевидная возможность объяснения заключается во внутриклеточной конкуренции за наличные аминокислоты и белки, необходимые для синтеза ферментов. В связи с описанными на стр. 309 экспериментами по изучению активности галактозидомы Шпигельман [583] показал (фиг. 90), что клетки, адаптирующиеся к использованию галактозы, в известной мере утрачивают глюкозидомную активность. Однако это наблюдалось лишь в отсутствие экзогенного источника азота. В присутствии экзогенного азота уменьшения глюкозидомной активности не происходит.

Сходные результаты получили Коэн и Торриани [113] в опыте, в котором исследовалась адаптация *Escherichia coli* к разложению β -галактозида. Когда в клетках, находящихся в контакте с меллибиозой, увеличивается активность β -галактозидазы, связанная с антигеном Gz, то происходит одновременное, но неэквивалентное уменьшение титра антигена, обозначаемого Pz (фиг. 91). Хотя с Pz не связана никакая ферментная функция, его следует считать важным клеточным компонентом, играющим известную роль. Уменьшение его титра, так же как и уменьшение активности глюкозидомы у дрожжей в отсутствие экзогенного азота при синтезе других ферментов, указывает на ограниченность доступного белка в клетке. Следует иметь в виду вытекающую отсюда возможность, что ферментный белок, количество которого уменьшается, структурно близок к синтезируемому белку и потому может служить непосредственным материалом для его синтеза.

Остроумно применив анализ изменений в общем количестве свободных аминокислот и соединений, содержащих C^{14} , Шпигельман и Халворсон [584] доказали, что ферменты, образующиеся в процессе адаптации, синтезируются прежде всего из присутствующих в клетке свободных аминокислот и что уже имеющиеся в клетке белки используются лишь в незначительной степени и только косвенно. Кроме того, в опытах с соединениями, мечеными S^{35} , было также установлено, что сера, входящая в состав белка Pz, не используется при синтезе белка Gz. Следовательно, в условиях данного опыта Pz нельзя считать предшественником β -галактозидазы [284]. С другой стороны, опыты Дубнова [153] показали, что при наличии соответствующей активирующей системы предобразованный, но в ферментативном отношении неактивный белок служит материалом для

Изменения
построения ада
ные ферменты м
так и из неактив
ного белка.

Рассмотрени
что живой орг
на которую н
влиянием как
туда и характ
ствия огранич
контролирует
адаптивной сис
вание и воспр

Что такое
организм или
назвать внеге
очередь цитоп
лизуются в ци
гена, не измен

Эти рассуж
выражения ге
мы рассмотрим
ролью клетки

Можно дум
температуры
дрожжей и ба
важный прин
указания на
наличии соот
антигенный т
жей и бакте
привести к п
Тем не менее
известных ус
ности или кол
принимая во
ограниченную
активное пос
трешнее прос
для протека
картина явл
оборота веще
другое. Поск
обороте, огра
яния будет и

построения адаптивного фермента. Как указывает Дубнов, адаптивные ферменты могут синтезироваться как из свободных аминокислот, так и из неактивного в ферментативном отношении, но предсуществующего белка.

ВЫВОДЫ

Рассмотрение роли генотипа в формировании фенотипа показало, что живой организм состоит из координированной системы генов, на которую накладывается адаптивная система, подверженная влияниям как генетической системы, так и внешней среды. Амплитуда и характер реакции адаптивной системы на внешние воздействия ограничиваются генной системой. Генетическая система контролирует степень совершенства и непрерывность существования адаптивной системы, которая в свою очередь обеспечивает существование и воспроизведение генетической системы.

Что такое адаптивная система? Собственно говоря, это весь организм или вся клетка, но при константном генотипе так можно назвать внегенную часть клетки. Следовательно, это в первую очередь цитоплазма, хотя нельзя забывать, что детерминанты локализуются в цитоплазме и что можно значительно изменить действие гена, не изменяя самый ген.

Эти рассуждения показывают, насколько важна вся клетка для выражения генотипа в дефинитивном фенотипе. В следующей главе мы рассмотрим, что нам известно о функциях цитоплазмы в связи с ролью клетки в целом в проявлении наследственных признаков.

Можно думать, что изменение антигенного состава с изменением температуры у *Paramecium aurelia* и ферментативные изменения у дрожжей и бактерий при перемене субстрата иллюстрируют очень важный принцип в экономии клетки. В обоих этих случаях имеются указания на конкуренцию за наличный белок. У *Paramecium* при наличии соответствующей среды и достаточного времени один антигенный тип, по-видимому, всегда берет верх над другим. У дрожжей и бактерий действие оказывается не столь сильным, чтобы привести к полному вытеснению одного белкового типа другим. Тем не менее присутствие белка одного определенного типа при известных условиях непосредственно связано с уменьшением активности или количества белка другого типа. Этого и следовало ожидать, принимая во внимание, что клетка, как конечная структура, имеет ограниченную поверхность, через которую может происходить активное поступление и выделение веществ, и ограниченное внутреннее пространство, в котором находятся молекулы, необходимые для протекания жизненных процессов. По-видимому, наблюдаемая картина является результатом сдвига внутриклеточного кругооборота веществ из одного более или менее устойчивого состояния в другое. Поскольку количество веществ, участвующих в этом кругообороте, ограничено, следует ожидать, что любое изменение состояния будет иметь для клетки далеко идущие последствия.

Глава XII

ПРЕЕМСТВЕННОСТЬ КЛЕТОЧНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

С самого зарождения генетики хромосомы заняли центральное положение в исследованиях в этой области науки. То обстоятельство, что эти частицы клетки были тотчас же признаны местом локализации менделевских единиц наследственности, стимулировало непрерывное и интенсивное их изучение и почти исключило из поля зрения остальные элементы клетки. Однако по мере того, как стали уделять все больше и больше внимания рассмотрению проявления действия гена, становилось очевидным, что при любом анализе действия гена необходимо принимать во внимание всю клетку и организм в целом. Кроме того, после того как были детально разработаны методы распознавания наследственности, связанной с ядром, стало возможно по принципу исключения определять наследственность, связанную с внехромосомными частями клетки. Внехромосомная наследственность, обычно именуемая цитоплазматической наследственностью (хотя первый термин более логичен, так как он включает и ядерный сок и другие внехромосомные элементы), была обнаружена на очень ранних стадиях развития генетики Корренсом [117] и Бауром [24]. Таким образом, в изучении наследственности наметились две ветви, в соответствии с хромосомной и цитоплазматической наследственностью. Главной целью этой главы будет исследование роли цитоплазматической наследственности и попытка установить соотношение между функциями ядра и цитоплазмы, чтобы более ясно представить картину современного понимания функции клетки в отдельной особи и в наследственности.

СУБЪЕДИНИЦЫ КЛЕТКИ И ИХ ПРЕЕМСТВЕННОСТЬ

Как было показано ранее, клетку следует рассматривать как единицу жизни и воспроизведения (см. гл. II). Столь широкое положение требует некоторого разъяснения; прежде всего следует выяснить, что же подразумевается под единицей жизни. Существует много различного рода единиц жизни. Например, изолированная самостоятельная популяция животных и растений является единицей жизни, состоящей из субъединиц, называемых видами, которые в свою очередь состоят из индивидуумов. Если индивидуумы многоклеточны, то следует считать, что они в свою очередь состоят из

субъединиц — клеток этой иерархии на точки зрения клеток, микросомы, свести к еще более до атомов и их предел живого вставляющих единицам?

Подойдем к результатам клеточного деления, две дочерние клетки сохраняют приблизительно мутации, обобщенные клетки. О клетках при митозе таким образом, уясняется и что в результате их неидентичный их не как ошибка может или даже к нематозитоплазмы такогодующее: деление не приводит к с всегда удается плазматического наследственно? Можно цитоплазмы, по-это еще не клетка меньшей степени роения целой клеточекментов обеих частей важность, не может цитоплазма не рождать цитоплазма на вопрос о наследственной клетке, поскрой к удвоению редь способны к ривать как на другой живой единицей, способны свою биологическую по-видимому, не черкнуть важноственности, ихсамоудваивающитермина необхо

субъединиц—клеток. Насколько можно продолжить расчленение этой иерархии на субъединицы? С чисто физической или химической точки зрения клетки можно расчленить на такие частицы, как хромосомы, микросомы, митохондрии и т. п., каждую из которых можно свести к еще более мелким частицам и далее к молекулам и, наконец, до атомов и их частей. Но где же, с точки зрения биологии, лежит предел живого в этом процессе сведения строительных блоков, составляющих единицы жизни, ко все более и более мелким субъединицам?

Подойдем к вопросу другим путем и рассмотрим механизм и результаты клеточного деления. Тканевая клетка делится, образуя две дочерние клетки, которые, находясь в тех же самых условиях, сохраняют приблизительно идентичные фенотипы и, если исключить мутации, образуют в следующем поколении четыре почти идентичные клетки. Очевидно, что для получения абсолютно идентичных клеток при митозе должны удваиваться все части, обеспечивая, таким образом, удвоение целого. Известно, что хромосомы удваиваются и что в результате митоза каждая дочерняя клетка получает идентичный их набор. Точное удвоение хромосом существенно, так как ошибка может привести к тяжелым расстройствам в фенотипе или даже к немедленной гибели. Имеет ли столь точное деление цитоплазмы такое же значение? Факты, по-видимому, говорят следующее: деление цитоплазмы может быть совершенно неравным и не приводит к ощутимым изменениям в фенотипе потомства, но не всегда удается определить, является ли при этом деление цитоплазматического содержимого неравным качественно или количественно? Можно лишь утверждать, что *некоторое* количество цитоплазмы, по-видимому, необходимо во всех случаях. Одно ядро—это еще не клетка; такое ядро обладает признаками жизни, даже в меньшей степени, чем безъядерная клетка. Следовательно, для построения целой клетки необходимо, чтобы произошло удвоение элементов обеих частей клетки. Ядро, несмотря на его несомненную важность, не может обеспечить создание всей цитоплазмы, равно как и цитоплазма не может дать клетку, способную делиться и синтезировать цитоплазму поколения за поколением. Следовательно, отвечая на вопрос о наименьшей возможной единице жизни, надо признать ее клетку, поскольку она является наименьшей единицей, способной к удвоению и образованию живых единиц, которые в свою очередь способны к тому же. Несмотря на то, что клетку можно рассматривать как наименьшую единицу, способную к воспроизведению другой живой единицы, тем не менее она не является мельчайшей единицей, способной к удвоению. Такие единицы, как гены, сохраняют свою биологическую целостность из поколения в поколение, по-видимому, независимо от остальных частей клетки. Чтобы подчеркнуть важность этих единиц в сохранении биологической преемственности, их иногда представляют как *аутокаталитические*, *самоудваивающиеся* или *самовоспроизводящиеся системы*. Эти три термина необходимо основательно изучить, чтобы уточнить их

смысл. Все они обычно употребляются как синонимы, так что обсудить один из них — значит обсудить и другие. *Аутокатализ* термин, заимствованный из химии. Когда он употребляется химиками, то обозначает тип реакции, в которой один из продуктов действует как катализатор реакции. Продукт, обладающий таким действием, называют *аутокатализатором*, так как он непосредственно катализирует свое собственное образование. Кривая, показывающая изменение скорости такой реакции в зависимости от времени, экспоненциальна, и, если количество субстрата ограничено, она становится S-образной, вполне сравнимой с кривой роста популяции.

Так как биологический рост и аутокатализ могут быть описаны кривыми одного и того же типа, то естественно предположить, что в общем кинетика обоих процессов сходна. Это, однако, не означает, что каждая единица клетки, сохраняющая свою самостоятельность в ряду поколений, является аутокатализатором в том смысле, что она непосредственно катализирует процесс своего собственного образования. Вполне возможно, что такие единицы образуют части циклических систем, в которых они могут выполнять или не выполнять роль катализаторов. В процессе завершения цикла такая единица воспроизводится в качестве промежуточного продукта. Она в свою очередь может действовать как катализатор другой циклической системы, продукты которой способны катализировать ее собственный синтез. Можно показать математически, что если скорость синтеза каждого из двух компонентов клетки определяется концентрацией другого, то увеличение количества каждого компонента будет выражаться аутокаталитической или экспоненциальной кривой [278]. Таким образом, если каждая часть клетки оказывает каталитическое действие на другую ее часть и наоборот, то нет ничего удивительного в том, что каждая часть клетки должна обнаруживать аутокаталитический рост.

Возьмем в качестве примера некий фермент, количество которого увеличивается экспоненциально (см. нарастание количества галактозидомы, стр. 309); очевидно, что если активность этого фермента определяет отчасти метаболическую активность клетки, которая необходима для его синтеза, то и кинетика этого синтеза будет аутокаталитической. Фермент сам по себе не является истинным аутокатализатором, но составляет часть аутокаталитической системы. Каждый из членов этой системы обладает одной основной функцией — гетерокатализом, т. е. способностью катализировать какую-либо реакцию. В свою очередь продукты реакции косвенно воздействуют на синтез катализатора, т. е. происходит «псевдоаутокатализ». Следовательно, каждый катализатор или фермент выполняет одну функцию — катализ, а ауто- и гетерокатализ в этом смысле являются просто разными проявлениями его действия.

По мнению Шигельмана [581], аутокаталитическая кинетика увеличения активности галактозимазы при адаптации дрожжей к галактозе указывает на то, что молекулы галактозимазы удваива-

ют. В то же время клетка
он разделяет авто- и
[435] считает, что га-
ожидать, что энергия,
торы, вновь используе-
тов, катализирующих
служить источником э-
ограничены, то можн
мента во времени выр-
большую, чем на эк-
мости можно было бы
завывался при участ
субстраты, находящие
непосредственно — и
которые приобретают
тате действительного

В современных ги
к полному разделени
и к представлению о
вано на концепции об
Паулингом [477]. Ген
кает из окружающей
что совершается в о
711] тем, что она каж
теза, требующая, что
ряда реакций. После
участия всех генов в
к целой вспышке му
одного из них. Хотя
например, гл. III, с
либо из этих гипотез
тельно явления мут
предполагать, что ге
Хотя мутация приво
должна вызвать изм
контролируется мут
что, всегда имеется
действие которых
мутации наряду с п
ные мутации упомя
Среди немногих
два являются наиб
ген может быть си
ного ему гена. Так
существующих ген

ются, подобно клеткам, поколение за поколением. Следовательно, он разделяет ауто- и гетерокаталитические функции. Моно и Кои [435] считают, что галактоза является источником энергии. Можно ожидать, что энергия, освобождающаяся при расщеплении галактозы, вновь используется для синтеза фермента или ряда ферментов, катализирующих реакцию. Если индуктор фермента не может служить источником энергии, а другие источники доступной энергии ограничены, то можно показать, что нарастание количества фермента во времени выражается кривой, похожей больше на гиперболическую, чем на экспоненциальную кривую [435]. Такой зависимости можно было бы ожидать в том случае, если бы фермент образовывался при участии другого катализатора, действующего на субстраты, находящиеся в ограниченных концентрациях, или более непосредственно — из ранее образовавшихся белковых молекул, которые приобретают новую каталитическую функцию в результате действительного контакта с молекулами индуктора.

Удвоение генов

В современных гипотезах об удвоении генов имеется тенденция к полному разделению ауто- и гетерокаталитической функции гена и к представлению о возникновении новых генов; последнее основано на концепции образования антител антигенами, предложенной Паулингом [477]. Ген представляют в виде шаблона, который извлекает из окружающей среды материал для построения нового гена, что совершается в один этап. Эту гипотезу аргументировали [161, 711] тем, что она кажется гораздо более правдоподобной, чем гипотеза, требующая, чтобы каждый ген строился шаг за шагом путем ряда реакций. Последнее потребовало бы прямого или косвенного участия всех генов в синтезе каждого из них, что могло бы привести к целой вспышке мутаций среди многих генов вследствие мутации одного из них. Хотя такое явление наблюдается весьма редко (см., например, гл. III, стр. 57), тем не менее трудно принять какую-либо из этих гипотез, так как нам слишком мало известно относительно явления мутирования. С другой стороны, нет необходимости предполагать, что ген теряет всю свою активность при мутировании. Хотя мутация приводит к изменению в фенотипе, она не обязательно должна вызвать изменение других генов, синтез которых частично контролируется мутировавшим геном. Следует также иметь в виду, что всегда имеется множество летальных мутаций, специфическое действие которых невозможно выявить. Эти «разрушительные» мутации наряду с прочими проявлениями могут вызывать и вторичные мутации упомянутого выше типа.

Среди немногих известных фактов, касающихся синтеза генов, два являются наиболее важными. Во-первых, насколько известно, ген может быть синтезирован только в присутствии другого подобного ему гена. Так же как и клетки, гены возникают только из существующих генов. Кроме того, гены удваиваются как части

высших единиц — хромосом. Нормальная хромосома, находясь в одной клетке с гомологом, имеющим нехватку, не может восстановить дефекта своего неполного партнера. Во-вторых, синтез нового гена в присутствии его «модели» — очень точный процесс. При этом происходит очень немного «ошибок», проявляющихся в виде мутаций, влияющих на фенотип. С другой стороны, однажды сделанная ошибка, проявляющаяся как обнаруживаемая мутация, будет неограниченно долго воспроизводиться как таковая.

Очевидно, что гипотеза «шаблона» способна рационально объяснить оба эти факта. Если согласиться с тем, что каждый ген является звеном в цикле реакций, в котором он действует как промежуточное соединение [109], то необходимо допустить, что он является неотъемлемой частью цикла (см. также стр. 316). Без него цикл не может осуществляться и ген не сможет воспроизвестись. Если изменяется ген, изменяется и цикл, а образующийся в результате измененного цикла ген будет подобен мутантному. Ни та, ни другая гипотеза не могут объяснить, почему нормальная хромосома, находясь в клетке, гетерозиготной по нехватке, не может выправить дефекта в своем гомологе.

Следовало бы подчеркнуть, что ни одна из двух обсуждаемых гипотез — ни гипотеза контакта с шаблоном, ни гипотеза участия в цикле — не являются простыми. Одинаково трудно представить себе силы, которые должны участвовать в доставке основных строительных блоков будущего гена к его модели, или сложную серию сопряженных циклов, необходимых для многоступенчатого синтеза гена. Обе гипотезы были представлены как альтернативные, чтобы подчеркнуть их различие, но они вовсе не являются взаимоисключающими или противоположными. Можно пользоваться и сочетанием обеих гипотез. Но важно уяснить, что нет необходимости полностью разделять аутокаталитическую и гетерокаталитическую функции генов. Ни одна из этих гипотез, а также их комбинация не дают исчерпывающего объяснения. Существует слишком много факторов, которые нельзя объяснить ни одной из современных гипотез.

Удвоение компонентов цитоплазмы

Вопросы, возникающие при рассмотрении удвоения хромосом, уместны также и в отношении остальных частей клетки. К сожалению, относительно удвоения негенного материала клетки известно даже еще меньше, чем об удвоении хромосом, но это отнюдь не препятствует спекуляциям по этому поводу. В следующем разделе будет показано, что имеется соответствующее доказательство существования генетической преемственности элементов цитоплазмы, но возможная связь этой преемственности со специфическими компонентами цитоплазмы была обнаружена лишь в немногих случаях.

Центриоли, митохондрии, пластиды, микросомы и тельца Гольджи относятся к микроскопически видимым цитоплазматическим частицам, несомненно, имеющим более важную функцию, чем хранение

запасных веществ, присутствующих во всех организмах. У животных можно отметить от генетической, однако, серьезное значение. У некоторых организмов могут возникать мутации, как у млекопитающих, как у некоторых растений, кинетосом, ресничек, показана преемственность им генетическая интересная теория.

Митохондрии, компоненты клетки, считавшиеся в прошлом, по-видимому, на их несомненную ответственность в ряде процессов, возможно, способствующих цитоплазматическим митохондриям во взаимодействии с генетическими факторами обнаруживают генетическую преемственность.

Физическая преемственность с очевидностью проявляется над несомненным семейством Centrioles. Генезис замкнутого первого порядка параллельно ему, образуя эллипсоид, получают две части, так что митохондрии. Генезис митохондрий, каждая с

Сперматогонии могут быть произведены тем не менее сперматогенезе. Сперматогонии относятся к двум своим долям. Воз

запасных веществ. Вполне возможно, что они генетически преемственны во всех организмах, где они встречаются. Центриоли присутствуют во всех клетках животных и низших растений. У многих животных можно наблюдать их деление и удвоение, т. е. их преемственность от одного поколения к другому [661, 694]. Имеется, однако, серьезное сомнение в том, что эта преемственность является генетической у всех организмов, так как центриоли, по-видимому, могут возникать *de novo* при воздействии некоторых внешних факторов, как у морского ежа [694], или, возможно, даже из ядра, как у некоторых низших растений [719]. Львов [386], подобно большинству протистологов, придает большое значение центриолям или кинетосомам ресничных простейших, на которых может быть четко показана преемственность от поколения к поколению. Он приписывал им генетическую роль, сравнимую с ролью генов, и предложил интересную теорию, проливающую свет на их роль в развитии.

Митохондрии, несомненно, представляют собой существенные компоненты клеток животных. Их роль в метаболизме уже рассматривалась в предыдущих главах. В растительных клетках они имеют, по-видимому, такое же значение [454, 455]. Однако, несмотря на их несомненную важность и на указания относительно преемственности в ряду последовательных поколений из-за почти повсеместного их присутствия во всех клетках всех организмов, они, возможно, способны возникать *de novo* из невидимых компонентов цитоплазмы, не имеющих свойств митохондрий. Присутствие митохондрий во всех клетках не является доказательством их физической и генетической преемственности, подобной той, которую обнаруживают гены.

Физическая передача митохондрий через мужские гаметы была с очевидностью показана Вильсоном [695] в его великолепных наблюдениях над несколькими видами скорпионов. У скорпионов из семейства *Centruridae* митохондрии образуют в начале сперматогенеза замкнутое кольцо, которое располагается в сперматоцитах первого порядка непосредственно кнаружи от веретена и обычно параллельно ему. В первой метафазе кольцо вытягивается в плоскости, параллельной длинной оси веретена. Образовавшийся таким образом эллипс затем разрывается на концах, в результате чего получаются две митохондриальные палочки, лежащие параллельно. В телофазе каждая из этих палочек делится поперечно на равные части, так что сперматоциты второго порядка получают по две митохондрии. При втором делении снова происходит поперечное деление митохондрий, вследствие чего образуется четыре сперматиды, каждая с двумя митохондриями.

Сперматогониальные митотические деления, к сожалению, не могут быть прослежены так же просто, как деления мейотические, но тем не менее ясно, что митохондрии образуют кольцо только при сперматогенезе. Во время митотических делений митохондрии расходятся к двум полюсам, так что каждая дочерняя клетка получает свою долю. Возникновение новых митохондрий в течение продол-

жающихся митозов остается, однако, неясным, хотя, по-видимому, возможно их поперечное деление, как в сперматогенезе.

У скорпионов других семейств не наблюдается образования кольца во время сперматогенеза, но тем не менее достигается такое же равное распределение митохондрий. Скорпион *Opisthacanthus*, например, имеет 24 митохондрии в первичных сперматоцитах. Они распределяются в общем поровну при первом и затем при втором делении, так что из каждого сперматоцита первого порядка образуется, как правило, по 4 сперматиды, каждая с 6 митохондриями. Из примерно 500 случаев, изученных Вильсоном, 76% имели 4 сперматиды с 6 митохондриями, 17% — с 5 и 7% — с 7 митохондриями. Вильсон [695] истолковал эти данные как указание на механизм, обеспечивающий приблизительно равное распределение, но он не считал, что это указывает на что-либо большее, чем случайная сортировка. Хотя нерасхождение хромосом в мейозе имеет место гораздо реже, чем наблюдаемые случаи неравного распределения митохондрий у скорпионов, возможно, что Вильсон преуменьшил значение своих собственных наблюдений.

Так как митохондрии каждой сперматиды включаются в цитоплазму зрелого сперматозоида и, по-видимому, передаются таким образом следующему поколению, вполне возможно, что митохондрии скорпионов имеют генетическую преемственность. Сходные наблюдения о правильном распределении митохондрий в мейозе были сделаны на ряде насекомых [487] и на простейшем *Spirostomum* [177]. Это явление, возможно, имеет более широкое распространение, чем думали до сих пор. Может быть, улучшенные методы обнаружения митохондрий в делящихся клетках позволят изучить в будущем этот важный механизм с большим успехом и установить, представляет ли он собой общее явление или же всего лишь курьез, встречающийся у некоторых членистоногих и простейших. Преемственность хлоропластов зеленых растений доказана несколько лучше, чем преемственность митохондрий. Но даже и в этом случае не хватает решающих наблюдений, необходимых для доказательства генетической непрерывности. У низших зеленых растений, таких, как водоросли, можно наблюдать деление хлоропластов и распределение продуктов деления между дочерними клетками, образовавшимися в митозе. У некоторых *Chrysophyceae*, таких, как *Rhizochrysis* и *Myxochrysis*, деление хлоропластов не всегда поспевает за делениями клетки; в таких случаях образуются клетки без пластид [471]. В такой потере хлоропластов во время клеточного деления, возможно, и заключается причина того, что многие группы водорослей имеют бесцветных «двойников», идентичных зеленым формам во всем, за исключением присутствия хлорофилла и, следовательно, способа питания. Потеря хлоропластов может быть также, конечно, и следствием мутации гена, что было обстоятельно доказано на высших растениях (стр. 329).

Утрата хлорофилла и хлоропластов была экспериментально изучена у различных видов эвглены. Большинство видов эвглены,

а также много
автотрофами
лоте, но бы
Euglena gracilis
хлоропластов
вательно, что
возникают де
с *Euglena me*
у этого вида
бесцветных
хлорофилла
Euglena gracilis
их хлоропласт
ные линии со
пластов [497].
решающим до
ственности хл
вает и против
чрезвычайно т
стицы присут

У цветковых
пропластид, к
[375], но прям
(см. обзор Н
группе генетич
вательных пок

Остальные
мы и тельца
по мнению од
а по мнению д
ных упомина
этих точек зр
так как тель
клеток животн
пространены п
ствования пол

Критери

Для того что
преемственность
некоторые сво
пределяться м
ния. Эти требо
ства генетичес
клеточная еди
необходимо,

а также многие другие водоросли, не являющиеся облигатными автотрофами, теряют свой хлорофилл при культивировании в темноте, но быстро восстанавливают его, будучи возвращены на свет. *Euglena gracilis*, как было показано Бэкером [16], теряют все следы хлоропластов с исчезновением хлорофилла. Можно считать, следовательно, что у бесцветных особей в присутствии света хлоропласты возникают *de novo*. С другой стороны, Львов и Дузи [387], работая с *Euglena mesnili*, обнаружили, что полная утрата хлоропластов у этого вида (в результате роста в темноте) приводит к образованию бесцветных линий, которые совершенно неспособны к продукции хлорофилла или хлоропластов на свету. Более того, обработка *Euglena gracilis* сублетальными дозами стрептомицина лишает клетки их хлоропластов даже на свету. Полученные таким путем бесцветные линии совершенно лишены способности к регенерации хлоропластов [497]. Ни одно из этих наблюдений не может служить решающим доводом в пользу представления о генетической преемственности хлоропластов как таковых, но вместе с тем не доказывает и противоположного. Очевидно, что без генетической проверки чрезвычайно трудно определить, необходимо ли для удвоения частицы присутствие предсуществующей частицы.

У цветковых растений хлоропласты возникают из бесцветных пропластид, которые можно считать родственными митохондриям [375], но прямых экспериментальных доказательств этого не имеется (см. обзор Ньюкамера [454, 455]). Доказательства наличия в этой группе генетической преемственности хлоропластов в ряду последовательных поколений обсуждаются детально в следующем разделе.

Остальные существенные морфологические элементы — микросомы и тельца Гольджи, — подобно частицам, разобранным выше, по мнению одних авторов, обладают генетической преемственностью, а по мнению других, — образуются *de novo*; не существует достойных упоминания доказательств, подтверждающих какую-либо из этих точек зрения. Нет сомнений, что эти частицы удваиваются, так как тельца Гольджи являются неотъемлемым компонентом клеток животных, а микросомы (или хромидии), по-видимому, распространены повсеместно, хотя наилучшие доказательства их существования получены при работе с клетками животных тканей.

Критерии доказательства генетической преемственности частиц или субъединиц

Для того чтобы клеточная единица имела значение в обеспечении преемственности клеточной организации, она должна: 1) определять некоторые свойства клетки, 2) быть способной к удвоению, 3) распределяться между дочерними клетками во время клеточного деления. Эти требования можно считать минимальными для доказательства генетической преемственности. Для демонстрации того, что клеточная единица удовлетворяет этим требованиям, прежде всего необходимо, чтобы она была «отмечена» мутацией, вызывающей

существовать в одной и той же клетке, то это последнее возражение можно исключить при условии, что будет также показано, что при внесении в клетку частиц одного типа вносятся только эти частицы и никакие другие компоненты цитоплазмы донора. Если частицы вносятся путем нормального процесса оплодотворения (или слияния гифов у грибов), то этого невозможно доказать по методическим причинам. Действительно, решающее доказательство можно получить только при искусственном включении отмытых частиц. Хотя это теоретически возможно, как видно из опытов с успешным заражением клетки чистыми штаммами вирусов, но до сих пор этого не удалось достигнуть с нормальными клеточными компонентами.

Другим возможным методом служит определение рекомбинаций — основной генетический метод для расчленения генотипа. Чтобы использовать этот метод, необходимо было бы иметь в одной клетке два различных типа частиц, которые при взаимодействии образуют третий и четвертый типы в равных количествах. Расщепление четырех типов и дальнейшие рекомбинации между отличающимися частицами дали бы возможность исследователю идентифицировать признак с частицами. Это оказалось осуществимым для фага [273] и, возможно, будет осуществимо для митохондрий, хлоропластов и т. п. при условии, что сначала будет идентифицировано достаточное количество цитоплазматических маркеров. Вместе с тем, если цитоплазматические частицы несут только одно наследуемое свойство, этот метод окажется неприменимым.

ВНЕХРОМОСОМНАЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ

Хорошо известно, что фенотип клетки, имеющей данный геном, может быть широко модифицирован путем изменения условий окружающей среды. Это обратимый и непрерывный процесс, причина которого заключается в гибкости очень сложных взаимодействующих и потому взаимозависимых рядов и циклов биохимических реакций. Пределы этой гибкости и связанные с ней специфические особенности различны для каждого генотипа, даже если эти различия малы и проходят незамеченными. Наследуемый фенотип включает эту обратимую эластичность системы; изменения среды будут оказывать такое же влияние на ее выражение в последовательном ряду поколений генетически однородного потомства. Однако очевидно, что в пределах возможных выражений фенотипа при данном геноме имеются стабильные состояния, обладающие самоограничивающей гибкостью. Возможно, что эти свойства системы наследуются через цитоплазму. Как уже отмечалось, их часто связывают с наблюдаемыми изменениями в цитоплазматических частицах и объясняют мутациями гипотетических цитоплазматических единиц наследственности. Для этих реальных или гипотетических единиц предлагали самые различные названия: пангены, биобласты, плазматогены, хондриогены, цитогены, провирусы, геноиды, плазмиды, протомеры и пластогены. Ни один из этих терминов здесь не употребля-

ется, так как они не являются необходимыми для описания явления цитоплазматической наследственности. Механизм передачи цитоплазматических признаков недостаточно хорошо понят, чтобы провести его анализ.

Примеры цитоплазматической наследственности

Мы не можем привести здесь все многочисленные примеры внехромосомной наследственности, которые были описаны со времени первого открытия этого явления в 1909 г. [24, 117]. Большая часть случаев была обнаружена у высших растений или микроорганизмов и сравнительно немного — у животных. Их можно разбить на следующие условные категории, конечно не исключающие друг друга.

1. Создание различных цитоплазм и геномов в результате межвидовых скрещиваний.

2. Создание различных цитоплазм внутри одного и того же вида без известного прямого хромосомного влияния.

3. Возникновение цитоплазматических признаков под влиянием особой хромосомной мутации.

Очень важной проблемой при изучении цитоплазматической наследственности является разработка методов, позволяющих обнаружить это явление. Один из первых методов был создан при изучении скрещиваний родственных видов высших растений. Наиболее обширной и содержательной работой такого рода является работа Михаэлиса [410] и сотрудников на различных видах кипрея (*Epilobium*). Это небольшое цветковое растение из семейства *Onagraceae*, обычно диплоидное, образующее переносимые ветром семена и имеющее пыльцу, которая при оплодотворении не вносит сколько-нибудь значительных количеств цитоплазмы отцовского растения. Последнее свойство особенно важно, так как дает возможность количественно оценить наследственность, определяемую почти целиком свойствами материнской клетки, когда генные наборы обоих родителей идентичны. В типичном эксперименте *Epilobium luteum* скрещивали с *Epilobium hirsutum* в 25 поколениях на протяжении 23 лет по следующей схеме:

$$[(luteum \text{ ♀} \times hirsutum \text{ ♂}) \text{ ♀} \times hirsutum \text{ ♂}] \text{ ♀} \times hirsutum \text{ ♂}$$

в течение 25 поколений (линия lh^{25})

Таким путем геном *hirsutum* был постепенно введен в материнскую клетку *luteum* и получилась линия, обладающая общей клеточной характеристикой, очень близкой к *luteum*, но генетической конституцией *hirsutum*. Затем были проведены реципрокные скрещивания:

$$\begin{aligned} lh^{25} \text{ ♀} \times hirsutum \text{ ♂} & \quad (1) \\ hirsutum \text{ ♀} \times lh^{25} \text{ ♂} & \quad (2) \end{aligned}$$

Материнские и отцовские растения в обоих скрещиваниях имели теперь, по существу, одинаковые геномы, но отличались

в той части, которая...
растения. Фенотипиче...
различий было затем...
прокных скрещиваний...
Изучение потомства...
ных приведенным выше...
наличия цитоплазмат...
наследственности сам...
нообразных фенотип...
признаков. К их числ...
сились различия в ле...
сти, стерильности, а...
растения, окраске цве...
терозисе, вязкости ци...
мы, проницаемости, ч...
тельности к ядам, рез...
ности к грибам, реак...
температуру и свет, с...
тативной активности...
концентрации метаболит...
образии изменений, на...
шихся при этом, вк...
таким образом, почти...
самые фенотипические...
ления, которые можно...
дать в результате...
ядерных генов. Набл...
различия в степени...
ия признака вари...
реди потомков одно...
нивания, причем ра...
иногда значительно...
вал различия между...
ми реципрокных скре...
но опять-таки это наб...
хромосомными мута...
отбираем для изуче...
изменчивости размер...
на фиг. 92.

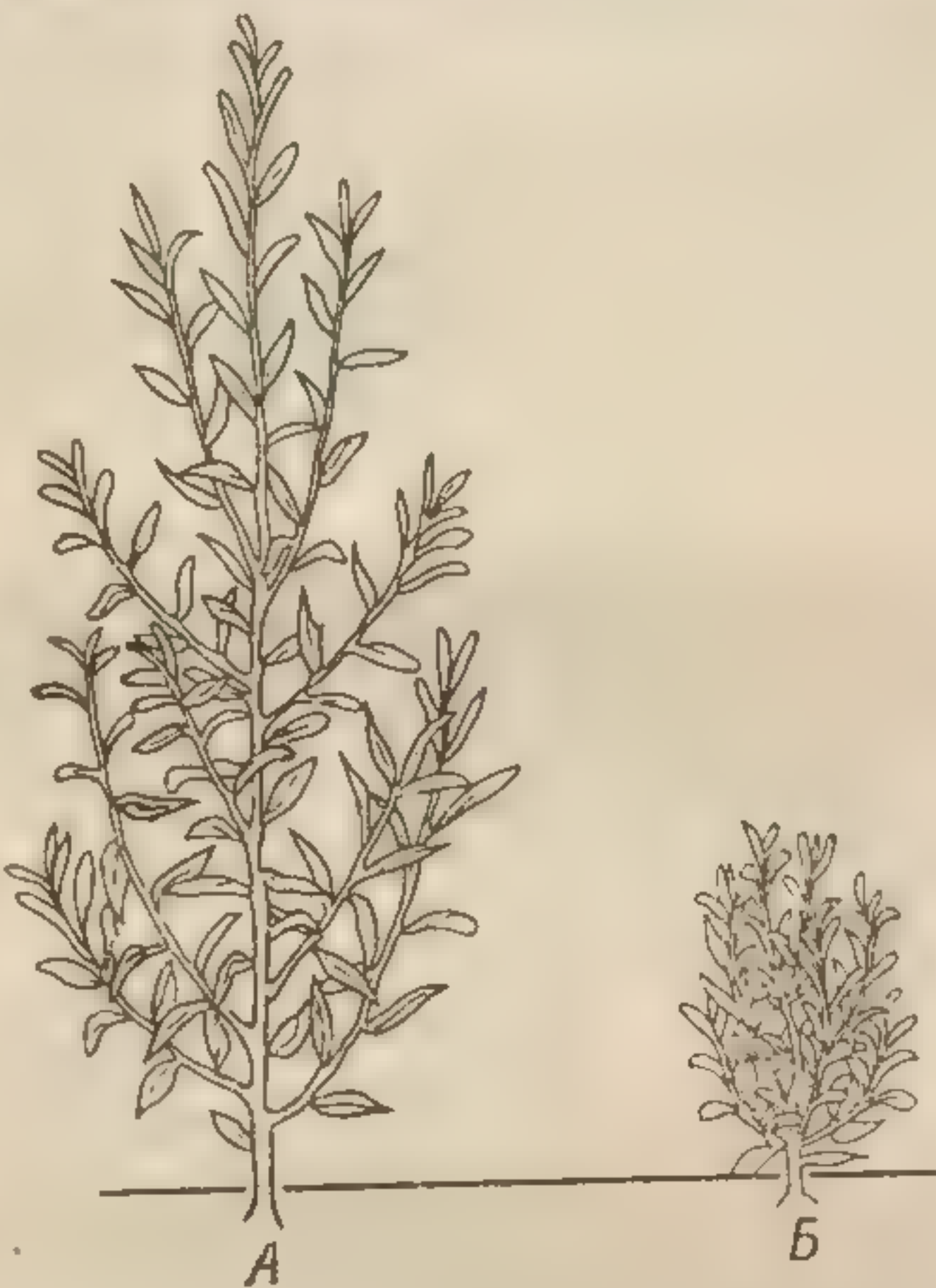
Межвидовые скр...
цитоплазматического...
случае реципрокные...
ственно, так как ра...
не случайно, как у...
которые перемещают...
мейоза. *Oenothera od...*
у *Oenothera lutea* и *Berberis...*

в той части, которая определялась цитоплазмой материнского растения. Фенотипическое выражение этих цитоплазматических различий было затем определено путем сравнения потомства реципрокных скрещиваний.

Изучение потомства большого числа различных линий, полученных приведенным выше способом, дало бесспорные доказательства наличия цитоплазматической наследственности самых разнообразных фенотипических признаков. К их числу относились различия в летальности, стерильности, анатомии растения, окраске цветка, гетерозисе, вязкости цитоплазмы, проницаемости, чувствительности к ядам, резистентности к грибам, реакции на температуру и свет, ферментативной активности и концентрации метаболитов. Разнообразие изменений, наблюдавшихся при этом, включало, таким образом, почти те же самые фенотипические проявления, которые можно наблюдать в результате мутаций ядерных генов. Наблюдаемые различия в степени выражения признака варьировали среди потомков одного скрещивания, причем размах их иногда значительно перекрывал различия между потомками реципрокных скрещиваний:

но опять-таки это наблюдается также и для признаков, изменяемых хромосомными мутациями, хотя в последнем случае мы обычно отбираем для изучения не перекрывающиеся признаки. Пример изменчивости размера и общего вида растений, полученных путем реципрокных скрещиваний различных видов *Epilobium*, показан на фиг. 92.

Межвидовые скрещивания *Oenothera* дают хорошие примеры цитоплазматического наследования у высших растений [511]. В этом случае реципрокные скрещивания могут быть испытаны непосредственно, так как расхождение хромосом в мейозе происходит здесь не случайно, как у *Epilobium*. Хромосомы объединены в комплексы, которые перемещаются как единое целое в анафазе первого деления мейоза. *Oenothera odorata* содержит два комплекса *v* и *I*, тогда как у *Oenothera Berteriana* имеются комплексы *B* и *1*. Каждый комплекс



Фиг. 92. Результаты реципрокных скрещиваний между близкородственными видами *Epilobium*, показывающие цитоплазматическое наследование размера растений [737].

А. Йена ♀ × Мюнхен ♂. Б. Мюнхен ♀ × Йена ♂.

может быть идентифицирован цитологически, и скрещивания Bv, VI между двумя этими видами создают новые комбинации IV и II. Результаты реципрокных скрещиваний, указывающие на влияние материнской цитоплазмы на растения, несущие эти новые комбинации хромосомных комплексов, суммированы в табл. 46. Как видно, гибриды, полученные в этих скрещиваниях, имеют признаки роста и выживаемости, зависящие как от вида материнского растения, так и от генома. В результате последующего самоопыления жизнеспособного гибрида обычно возникают растения с теми же особенностями, что и гибрид, но обратное скрещивание после нескольких поколений, восстанавливая нормальный хромосомный комплекс, приводит к нормальным растениям. Медленные и наследуемые изменения наблюдались при длительном самоопылении одного из гибридов.

Таблица 46

Цитоплазматическое наследование, выявленное в реципрокных скрещиваниях *Oenothera* [680]

Хромосомные комплексы	Свойства гибридов при скрещивании		Свойства гибридов при скрещивании	
	♀ <i>O. Berteriana</i> BI	× ♂ <i>O. odorata</i> VI	♀ <i>O. odorata</i> VI	× ♂ <i>O. Berteriana</i> BI
Bv	Нежизнеспособный		Нормальный	
VI	Нормальный		Слабый и желтый	
IV	В основном нормальный, нижние листья иногда желтые		» . . . »	
II	В основном нормальный, нижние листья иногда желтые		Нежизнеспособный	

Происхождение цитоплазматически наследуемых различий, обнаруженных в межвидовых скрещиваниях *Epilobium*, *Oenothera* и других организмов, остается неясным. Они могли образоваться под влиянием постепенно расходящихся геномов у некогда очень близких видов или могли возникнуть внезапно в изолированных популяциях. Окончательно решить этот вопрос невозможно, но было показано, что изменения, наследуемые цитоплазматически, могут возникать внутри вида быстро и, насколько это известно, не нуждаются в воздействии мутации хромосомного гена. Хорошие примеры получены на дрожжах и нейроспоре.

Вначале было обнаружено, что штаммы *Saccharomyces cerevisiae* спонтанно образуют мелкие колонии дрожжевых клеток, имеющих дефекты дыхательной системы [169, 170]. Частота появления таких «вегетативных карликовых» зависит от генетической конституции материнской клетки, но их образование, по-видимому, не обусловлено непосредственно каким-либо определенным геном. Вместе с тем был обнаружен мутант с очень сходным фенотипом, проявлявший в противоположность вегетативному карликовому расщепление по признакам роста и дыхательной системы так, как будто дан-

ный фенотип стрессовых и расщепляющихся при участии

Нормальное состояние

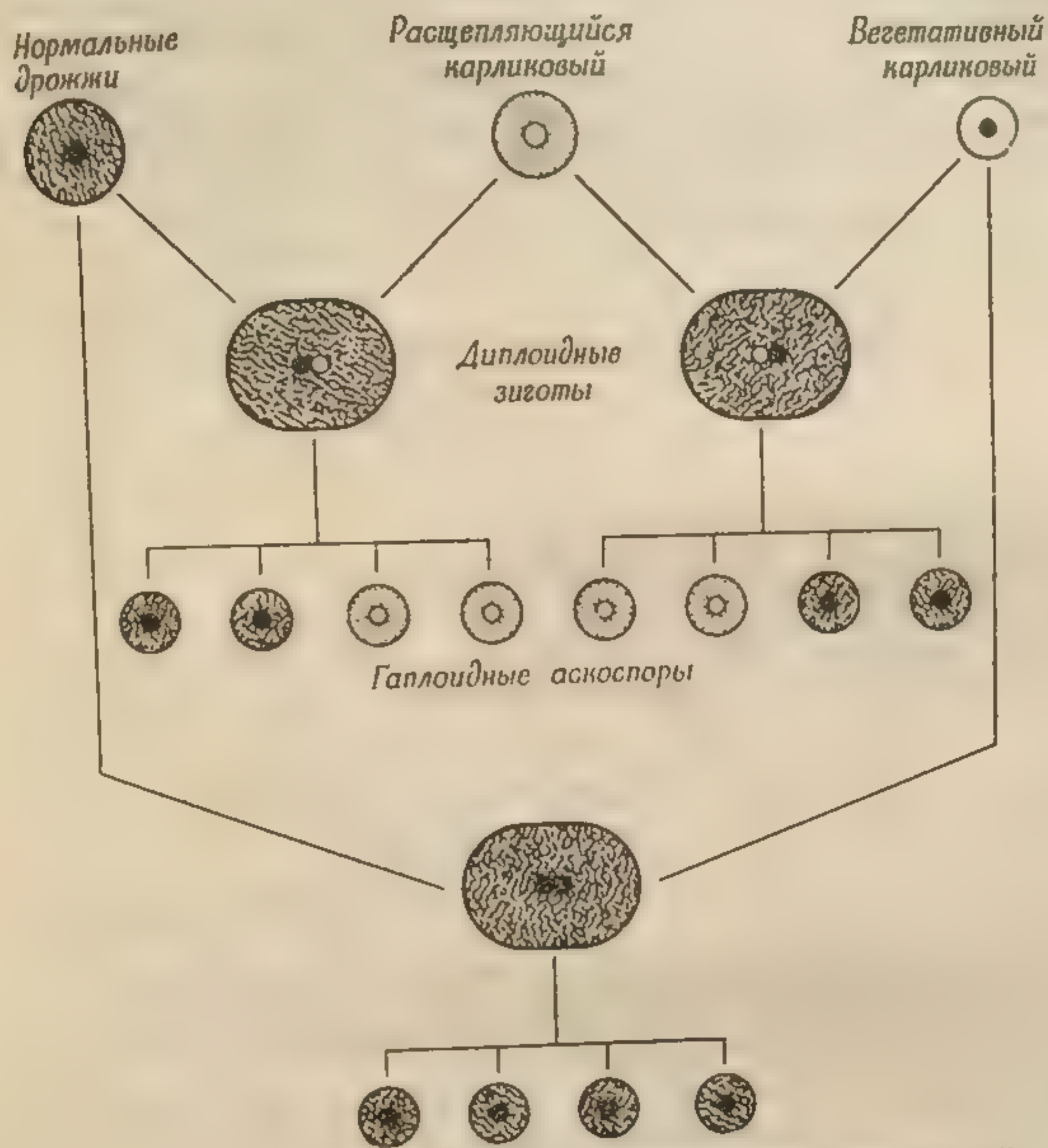


Фиг. 93. Р

Черные кружки мента ядерного ками или свет зиготе, но содер ющегося и кар зиготы сливают

нормального и вегетативного (они образуются в большинстве случаев в аскоспорах. Скрещивание дает карликовому карликовому расщеплению с клетками сливаются с клетками друг с другом

ный фенотип определялся мутацией одного гена. Результаты скрещиваний при участии нормальных дрожжей, вегетативных карликовых и расщепляющихся карликовых приведены на фиг. 93. Геномы



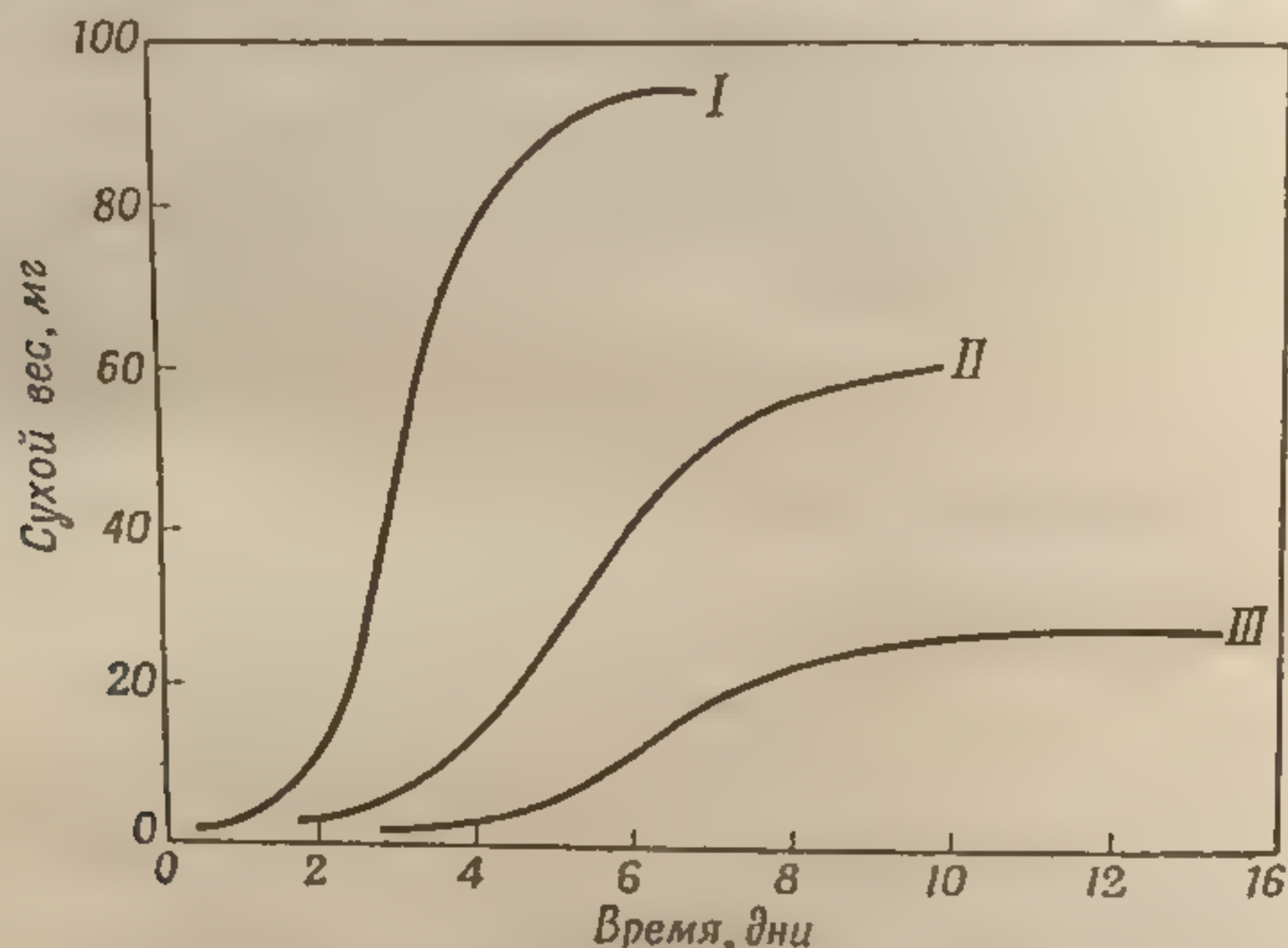
Фиг. 93. Результаты скрещиваний между нормальной и карликовой линией дрожжей [169].

Черные кружки в центре указывают на присутствие нормального компонента ядерного гена. Аномальная цитоплазма обозначена светлыми точками или светлой зоной вокруг ядра. Ядра фактически объединены в зиготе, но содержат один нормальный и один мутантный ген расщепляющегося и карликового признака. У этого организма при образовании зиготы сливаются целые клетки, т. е. в образовании как цитоплазмы, так и ядра участвуют оба родителя.

нормального и вегетативного карликового штаммов считаются одинаковыми (они обозначены сплошными кружками), и каждый из них в большинстве скрещиваний дает идентичные диплоидные зиготы и аскоспоры. Скрещивание нормального штамма с вегетативным карликовым дает нормальные зиготы и нормальные аскоспоры. Эти скрещивания понятны сами по себе; они показывают, что фенотип вегетативного карликового штамма утрачивается, если его клетки сливаются с клетками, несущими нормальный набор генов. К сожалению, клетки вегетативного карликового штамма при скрещивании друг с другом не дают диплоидную зиготу, образующую аскоспоры,

так что возможное взаимодействие двух его клеток не может быть выявлено. Тем не менее в этом случае доказательства цитоплазматического наследования убедительны, и они подтверждаются далее аналогией с весьма сходным случаем у нейроспоры [426, 429].

На этом организме можно провести анализ цитоплазматического наследования по типу, описанному у *Epilobium*. Оплодотворяющий родитель, по-видимому, вносит в зиготу очень мало цитоплазмы или совсем ее не вносит независимо от того, какой тип плесневого



Фиг. 94. Кривые роста различных штаммов нейроспоры.

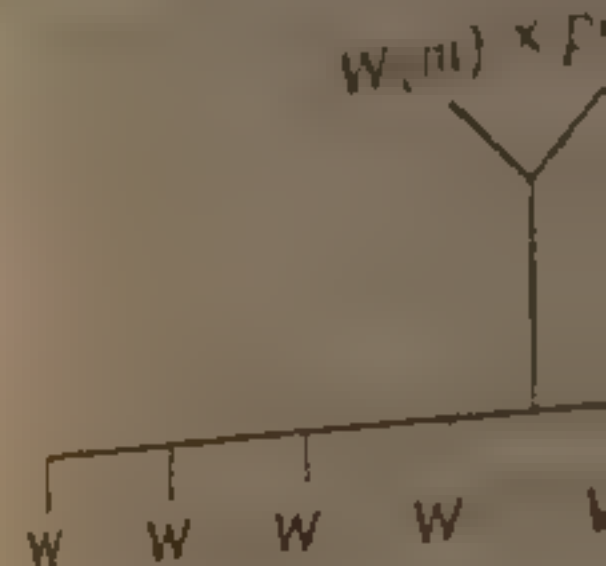
I — дикий тип; II и III — две линии, проявляющие цитоплазматическое наследование линии; (по материнской) II — *mi-3* и III — *року* (*mi-1*). Условия: рост в стационарных культурах в 20 мл среды, содержащейся в колбах объемом 25 мл при 25°.

грибка использовался в качестве материнского; вследствие этого возможно провести реципрокные скрещивания (см. фиг. 28). Кроме того, штаммы изучавшегося плесневого грибка плодовиты при скрещиваниях друг с другом во всех комбинациях. Для доказательства этого использовали спонтанно возникшие штаммы нейроспоры, обладавшие признаками медленного роста, а также дефектами в дыхательной системе, хотя и не абсолютно теми же, что вегетативный карликовый штамм (о дыхательной системе см. стр. 149).

Характеристики роста дикого типа и двух штаммов, обладающих цитоплазматической наследственностью, приведены на фиг. 94. Любой из этих штаммов, находясь на подходящей среде, покрывает агар и образует большое число зрелых протоперитецев, восприимчивых к оплодотворению конидиями противоположного типа скрещивания, относящегося к одному из штаммов или собственному штамму. Все или почти все потомство от каждого скрещивания, проведенного таким путем, имеет фенотип того родителя, от которого был взят протоперитец (фиг. 95).

Сходные результаты были получены при последовательных скрещиваниях во всех комбинациях с указанными тремя штаммами. Фенотипы сохранялись в последовательных скрещиваниях и в боль-

ном числе вегетативных особей ro , если ro — дикий тип, так как 20 000 потомков ro — скорость роста разлетается примерно в 20 раз по сравнению с нормальным



Фиг. 95.

W — дикий тип; ro — ro

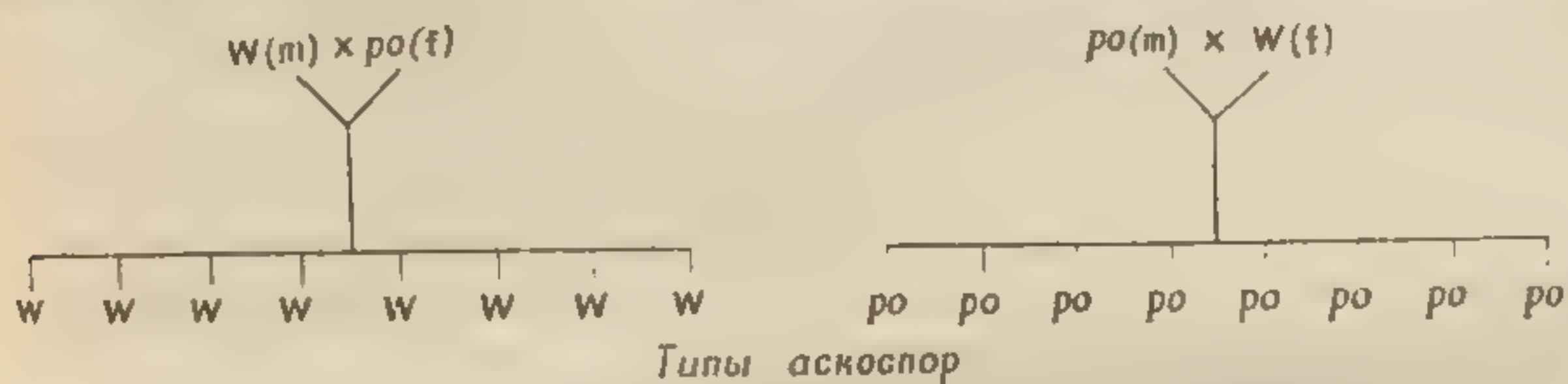
Повторные реципрокные скрещивания противоположного типа с

основании роста, ленные по биохимическим известным границам и четкие признаки

Как указывалось, чены также две мушкетеры медленным скрещиванием с дикий ни один из этих родителей, так Однако двойной служить протоперитец от такого скрещивания. Таким образом, наследование

Третий класс принят здесь с родственностью обуславливающей ее [373, 576]. Ген i мой хромосоме белую или иногда скрещиваниях потомство, если

шом числе вегетативных поколений. Потомство от скрещивания $po(m) \times w(f)$ содержало примерно 1 особь дикого типа на 1000 особей po , если для скрещивания брали зрелые протоперитеции. Это объясняется реципрокным скрещиванием, а не возвратом po к дикому типу, так как при скрещивании $po \times po$ среди более чем 20 000 потомков не было отмечено ни одной особи дикого типа. Скорость роста различных изолированных особей po и $mi-3$ колеблется примерно в пределах $\pm 15\%$, так же как и у особей из штаммов нормального дикого типа, однако фенотипы, определенные на



Ф и г. 95. Цитоплазматическое наследование у нейроспоры.

w — дикий тип; po — року; (m) — материнский или протоперитециальный родитель; (f) — оплодотворяющий родитель.

Повторные реципрокные скрещивания между культурами, полученными от любых двух спор противоположного типа скрещивания, дают тот же результат, что и два первых скрещивания.

основании роста, не перекрывают друг друга и фенотипы, определенные по биохимическим признакам (стр. 339), также не выходят за известные границы. Следовательно, эти штаммы нейроспоры дают ясные и четкие примеры неменделевского наследования.

Как указывалось выше (см. стр. 194), у нейроспоры были получены также две мутации ядерного гена ($C115$ и $C117$), характеризующиеся медленным ростом и нарушением системы дыхания. При скрещивании с диким типом у них происходит расщепление 1:1, ни один из этих классов не может служить протоперитециальным родителем, так что реципрокные скрещивания были безуспешны. Однако двойной мутант $C115$ с определенным супрессором может служить протоперитециальным родителем, и расщепление в потомстве от такого скрещивания является нормальным для этой комбинации. Таким образом, не исключена возможность, что цитоплазматическое наследование не имеет места по крайней мере у штамма $C115$.

Третий класс цитоплазматического наследования, как условно принято здесь с целью обсуждения, включает наследование, непосредственно обусловленное мутацией особого ядерного гена или являющееся ее следствием. Примерами может служить наследование признаков $iojap$ у кукурузы [514] и $killer$ у *Paramecium aurelia* [573, 576]. Ген $iojap$ у кукурузы рецессивен, локализован в седьмой хромосоме и в гомозиготном состоянии вызывает зеленую, белую или иногда желтую исчерченность растений. В реципрокных скрещиваниях с нормальной линией возникает разнообразное потомство, если $iojap(ij)$ используется в качестве материнского

растения, но если материнское растение нормально (Ij), то образуются только зеленые растения. Эти результаты представлены схематически на рис. 96, который включает также сводку результатов скрещиваний полосатых растений из F_1 . Как видно из рисунка, все растения F_1 от первых реципрокных скрещиваний имеют одинаковое строение в отношении хромосомных генов. Белые сеянцы из F_1 не созревают, а полосатые сеянцы созревают и могут быть использованы для дальнейших скрещиваний. Как показано, они образуют материнские клетки ij или Ij , которые после оплодотворения нормальной пылью обоих типов образуют зеленые, полосатые и белые растения. Таким образом, установлено, что, хотя рецессивный ген ij необходим для создания наследуемых цитоплазматических признаков, это состояние сохраняется и после замещения гена его доминантным аллелем. Конечно, возможно, что установленные случаи цитоплазматического наследования могут возникать подобным образом.

Цитоплазматическая наследственность у *Paramecium aurelia* очень широко изучалась на примере признака killer, ресничных антигенов и типов скрещивания [576]. Эти признаки представляют особый интерес, так как, не считая признака чувствительности к CO_2 у дрозофилы [376], являются единственными, хорошо обоснованными примерами цитоплазматического наследования у животных. Наследование антигенной специфичности рассматривалось в связи с влияниями внешней среды (стр. 299), так что в этом разделе будет рассмотрено детально только наследование признака killer.

Обмен ядерных генов у парамеции происходит при частичном слиянии двух животных, причем между ними образуется маленький цитоплазматический мостик. Ядра обоих родителей сливаются путем миграции через этот мостик, и после ряда последовательных делений и равного распределения образовавшихся новых ядер мостик разрывается и два животных отделяются друг от друга. Затем они размножаются прямым делением. Важной стороной процесса конъюгации, поскольку это касается цитоплазматического наследования, является то обстоятельство, что цитоплазматический мостик часто продолжает сохраняться в течение более длительного периода времени, чем это необходимо для обменов ядер, и допускает обмен относительно больших количеств цитоплазмы.

Как видно из фиг. 97, цитоплазматическое наследование у парамеции ясно демонстрируется посредством скрещиваний и обмена цитоплазмы между тремя указанными расами. Раса 1 — штамм killer, несет в ядре доминантный ген K ; у него образуются крупные цитоплазматические частицы каппа, и выделяются в культуральную жидкость другие крупные частицы, называемые парамецином. Как каппа-фактор, так и парамецин содержат большие количества дезоксинуклеопротеида, и парамецин образуется только в том случае, если в клетках присутствует каппа-фактор. Клетки, не содержащие каппа-фактора, чувствительны к парамецину, образуемому особями штамма killer, и погибают, соприкасаясь с ним. Чувствитель-

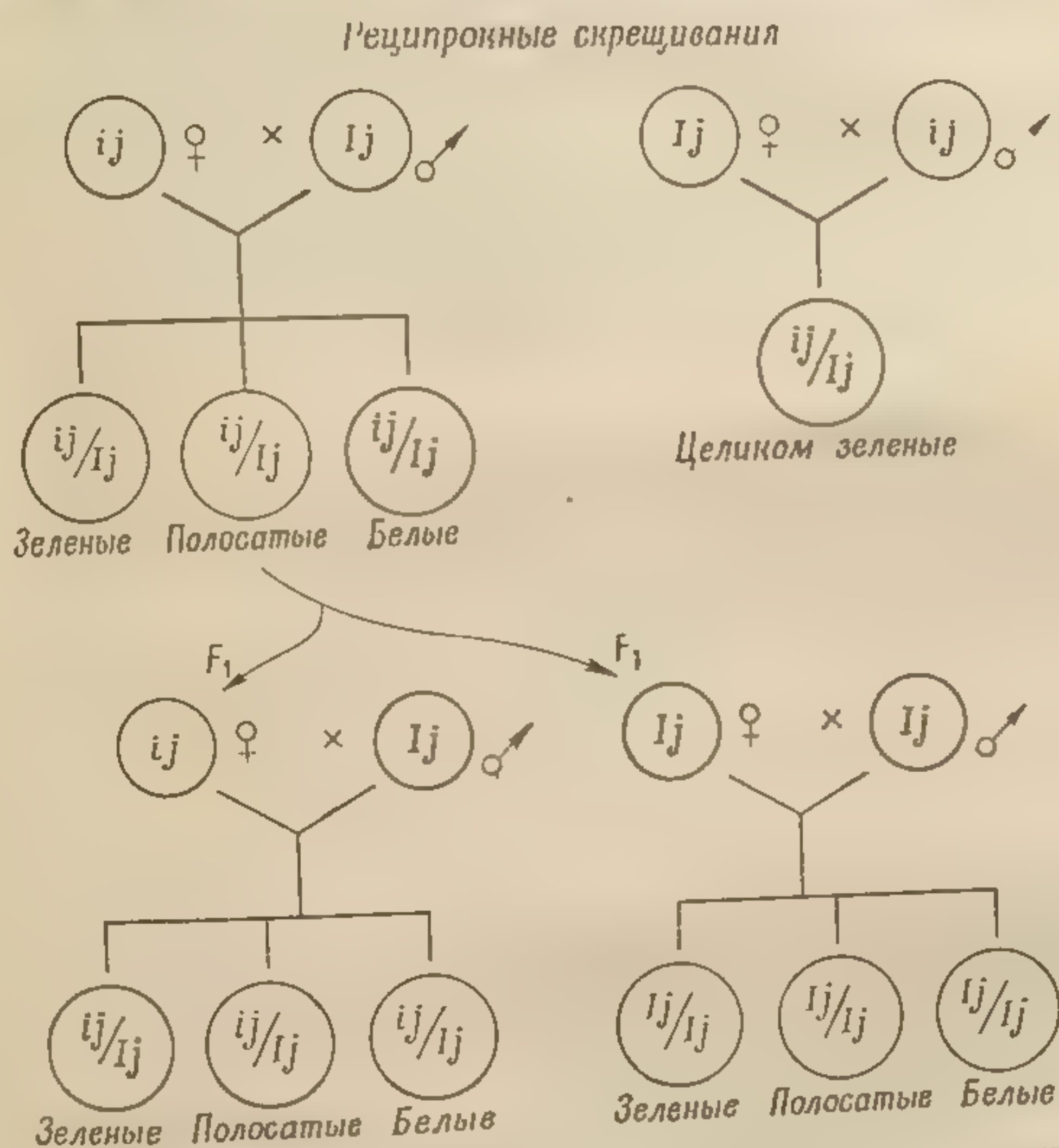
ные особи образуют
несет доминантный
аллель K . Во пр
таты скрещиваний
 1×3 и 2×3 об
каппа-фактор не



Фиг. 97
рузы,
ij обуслов
и не

гена K , даже если
В скрещивании
частиц каппа цит
продолжают су
типа 2 в killer.
Наряду с та
следования у п
лили установит
важное значени
среды, влияющ
а также установ
фактора и парам
0,4 μ , можно с

ные особи бывают двух типов (2 и 3 на фиг. 97): один из них несет доминантный ген K , а другой имеет только его рецессивный аллель k . Во время конъюгации гибели не происходит, и результаты скрещиваний между 1, 2 и 3 показаны на фиг. 97. Скрещивания 1×3 и 2×3 обнаруживают только расщепление K и k , так как каппа-фактор не может продолжать существование в отсутствие



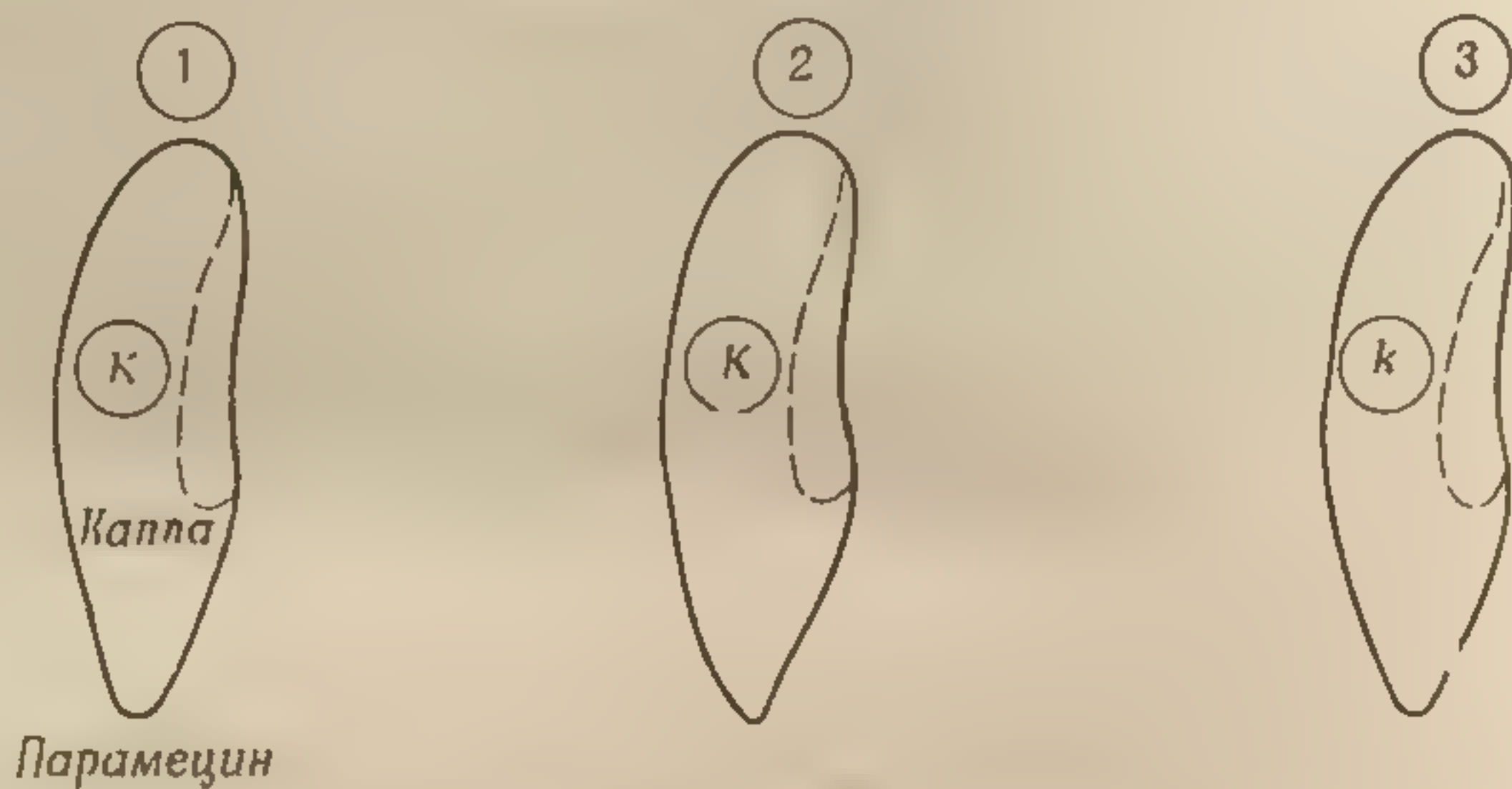
Фиг. 96. Цитоплазматическое наследование у кукурузы, показывающее влияние рецессивного гена ij . ij/ij обуславливает появление растений в зеленую и белую полосу и небольшого числа растений с желтыми полосками.

гена K , даже если его вносят типу 3 путем длительной конъюгации. В скрещивании 1×2 длительная конъюгация приводит к переносу частиц каппа цитоплазмой, и, так как 2 несет ген K , эти частицы продолжают существовать и, размножаясь, превращают особей типа 2 в $killer$.

Наряду с такой прямой демонстрацией цитоплазматического наследования у парамеции экспериментальные исследования позволили установить две другие группы данных, имеющие чрезвычайно важное значение. Они касаются разнообразных факторов внешней среды, влияющих на присутствие каппа-фактора и парамецина, а также установления существования различных видов каппа-фактора и парамецина. Частицы каппа, имеющие диаметр порядка $0,4 \mu$, можно обнаружить у штамма $killer$ окраской по Фельгену

(на ДНК). Парамеции этого штамма могут содержать до 1600 этих гранул на клетку, тогда как у чувствительного штамма они не обнаруживаются совсем. Если организм растет в условиях, благоприятствующих быстрому размножению клеток, то размножение частиц каппа отстает, вследствие чего образуются особи, свободные от каппа-фактора. Ограничивая размножение клеток путем изме-

Типы животных



Скращивание и типы потомков



Фиг. 97. Наследование признака killer у *Paramecium aurelia* [573, 575].

нения питания у животных с небольшим числом частиц каппа (по-видимому, даже с одной частицей), можно вызвать размножение гранул до их нормального количества. Особей штамма killer можно также превратить в чувствительных при воздействии высоких температур, рентгеновских лучей или иприта. Чувствительные особи, несущие ген К, можно вновь превратить в особей killer путем уже описанного переноса цитоплазмы или помещая их в концентрированную бесклеточную суспензию растертых особей killer.

Было показано, что каппа-фактор и парамецин существуют в нескольких формах с различной биологической специфичностью, но всегда обусловлены одним и тем же геном К [142]. Эти различные виды единиц наблюдались при экспериментальном понижении числа каппа-частиц в клетке до очень низкого уровня, с последующим периодом регенерации. Было обнаружено 5 типов, отличающихся по качеству и количеству образуемого парамецина. Например, исходный штамм killer вырабатывает парамецин, который вызы-

вадет у чувствительных особей образование пузырей, деформацию клеток и гибель, наступающую примерно через 24 часа. Из двух новых культур, полученных от исходного штамма путем понижения концентрации в них каппа-частиц с последующим их восстановлением, одна вырабатывает ограниченное количество парамедина, детальные свойства которого аналогичны таковым исходной культуры, тогда как другая выделяет парамедин, вызывающий у чувствительных особей быстрое вращение вокруг продольной оси клетки и смерть примерно через 8 час. Были получены и другие штаммы killer, вырабатывающие парамедин, способный убивать различных других killer; однако ни в одном случае не был обнаружен парамедин, действующий на самих вырабатывающих его животных. Все эти признаки killer, связанные с наличием или отсутствием частиц каппа, наследовались по описанной схеме (фиг. 97).

О механизме внехромосомного наследования

Развитие идей и гипотез относительно возможных механизмов передачи внехромосомных признаков, вполне естественно, последовало по пути, установленному уже для наследования признаков, определяемых хромосомами. Иными словами, допускалось, что цитоплазма содержит мутабельные и относительно автономно организованные структуры, распределяющиеся при делении клетки с известной закономерностью. Следовательно, было вполне оправдано брать легко наблюдаемые цитоплазматические включения (пластиды, митохондрии, микросомы) в качестве возможных носителей признаков, передаваемых не генами. Вызывает некоторое удивление, что в этот список возможных носителей признаков не было включено само ядро, которое из всех цитоплазматических частиц делится наиболее закономерно при делении клетки. Имеются доказательства, что ядра действительно дифференцируются при дифференцировке клеток, и нет достаточных оснований не считать их одновременно носителями как хромосом, так и единиц, способных при взаимодействии с цитоплазмой определять внехромосомную наследственность.

В связи с общей проблемой наследования при участии компонентов цитоплазмы следует отметить, что одно из затруднений, возникающих при определении цитоплазматического наследования, заключается в том, что у большинства организмов оплодотворяющий родитель вносит вместе с ядром некоторое количество цитоплазматических компонентов. Оно обычно значительно меньше, чем вносимое материнским родителем, но тем не менее его нельзя игнорировать. В приведенных здесь примерах реципрокных скрещиваний либо вносилось незначительное количество цитоплазмы от родителя-отца, либо признаки настолько доминировали, что небольшое количество отцовской цитоплазмы не вызывало последствий. О существовании такого рода доминантности свидетельствуют результаты скрещиваний у дрожжей и парамедий, у которых происходит прямое

смешение цитоплазмы конъюгирующих клеток. Так, при смешении цитоплазмы, «вегетативного карликового» и нормальных дрожжей получают нормальные зиготы и нормальные выщепенцы, тогда как при смешении цитоплазмы killer и К-чувствительных особей все потомство — killer. Вместе с тем фенотип killer не доминирует в присутствии гена k. На *Oenothera* было показано цитологически, что у некоторых видов пыльца вносит в материнскую клетку ощутимое количество пластид (а также, по-видимому, и ощутимые количества других компонентов цитоплазмы), и в этих случаях цитоплазматическое наследование проявлялось менее четко.

У кукурузы или *Oenothera* в этом участвуют пластиды, так как они изменяли окраску, тогда как у дрожжей и нейроспоры было показано, что цитоплазматически наследуемые признаки обусловлены изменениями в цитохромной системе, которая связана с митохондриями (фиг. 98). Признак killer у парамеции также связан с различимыми цитоплазматическими частицами каппа. В этом случае изменения столь значительны, что частицы не обнаруживаются вовсе в чувствительном штамме и каппа-фактор не вырабатывается, если только в клетке не присутствует несколько частиц. Наблюдается также зависимость степени выражения фенотипа killer от количества и качества частиц каппа, как указывалось ранее.

Эти и другие факты заставляют допустить два основных альтернативных объяснения механизма цитоплазматического наследования. Первое из них состоит в том, что любой из нескольких известных типов цитоплазматических частиц может обладать преобладающей и стабильностью, чтобы действовать в качестве детерминанта наследственности. К этим частицам относят пластиды, митохондрии, микросомы и, возможно, другие менее известные единицы; к ним также можно отнести вирусоподобные инфекционные частицы. В этом случае передача наследственных признаков обычно может обеспечиваться неупорядоченным расхождением частиц при клеточном делении. По-видимому, новой клетке необходима только одна частица из многих, имеющих в материнской клетке, чтобы начать воспроизведение и обусловить проявление признака. Согласно второму объяснению, цитоплазматическое наследование обусловлено метаболическим состоянием клетки в целом (см. обзоры Соннеборна и Эфрусси [170, 172, 575]). В этом случае необходимо допустить возможность существования нескольких стабильных метаболических состояний в пределах общих метаболических возможностей одного генома. Передача признака при этом должна быть связана с передачей функциональной организации, включающей различные крупные клеточные частицы, ферменты и метаболиты. Согласно этой схеме, специфические свойства клеточных частиц, морфология и активность которых могут быть различны в разной цитоплазме, определяются соотношением химической активности цитоплазмы. Это положение согласуется с известными фактами, касающимися динамического состояния обмена веществ. Компоненты цитоплазмы находятся в состоянии постоянного течения,

характеризуемого
что это справедливо
хондрий и микросом
Невозможно
или даже быть уве

Дрожжи
Нормальные дро
Вегетативный
карликовый
Расщепляющийся
карликовый
Зигота (v x s)

Дикий тип

mi-3

року (mi-1)

Нейроспора C115

C117

C115 в mi-3

C115 в року

C117 в mi-3

C117 в року

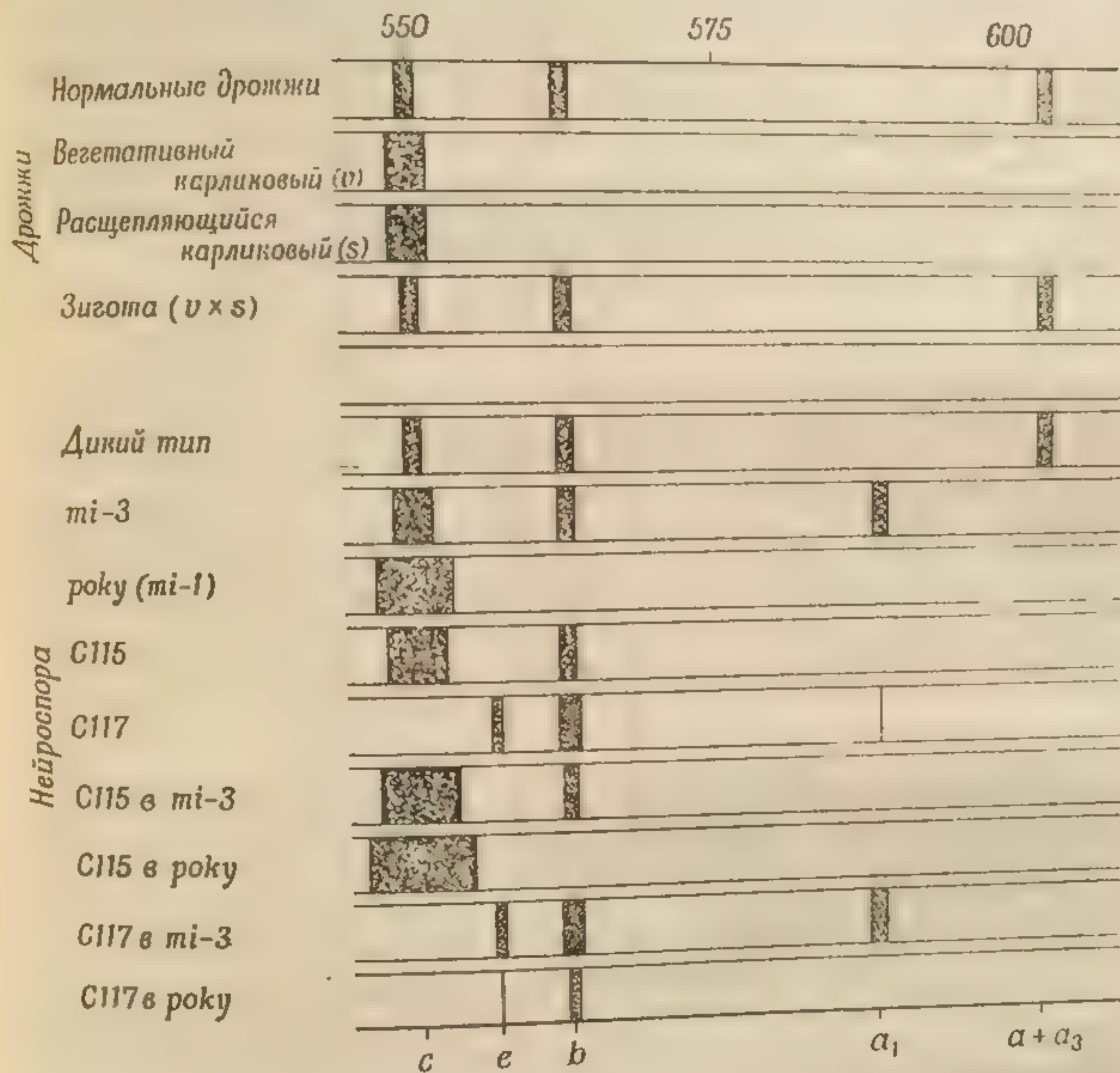
Фиг. 98. Цитохро
мная система

На самом деле различ
ные полосы поглощения

Тем не менее с
ные, хотя в на
сни причиной
ния цитоплазм
метаболизма и
при таком по
изменения раз
изменениями
кукурузой и с

характеризуемого непрерывным распадом и ресинтезом. Известно, что это справедливо для многих, но не для всех компонентов митохондрий и микросом, а также и для некоторых компонентов ядра.

Невозможно сделать выбор между этими двумя альтернативами или даже быть уверенным, что они являются взаимоисключающими.



Фиг. 98. Цитохромы у ряда штаммов дрожжей и нейроспоры. Линия поглощения a в системе цитохромов, обозначенная более широкой полосой, соответствует более высоким концентрациям.

На самом деле различия больше, чем указано на фигуре (см. текст). Внизу отмечено положение полос поглощения некоторых известных цитохромов, обозначенных буквами c , e , b , a_1 и $a + a_3$.

Тем не менее следует привести некоторые экспериментальные данные, хотя в настоящее время и невозможно решить, являются ли они причиной или следствием. Эти факты касаются изучения влияния цитоплазматической наследственности на различные стороны метаболизма и на общую биохимическую характеристику клеток; при таком подходе было установлено, что в нескольких случаях изменения различных признаков сопровождаются обнаруживаемыми изменениями в крупных цитоплазматических частицах. Хотя с кукурузой и *Oenothera* было проведено немного такого рода работ,

эти растения должны представлять хороший материал для подобных исследований.

Исследования с *Epilobium* [410] с самого начала были менее ограничены, так как в качестве критерия цитоплазматического наследования чаще использовались отклонения в морфологии, физиологии и метаболизме, чем появление частиц. Выше были упомянуты самые разнообразные употреблявшиеся критерии (стр. 325). В табл. 47 приведены некоторые показательные и наиболее специфические данные.

Таблица 47

Сравнение гибридов*, полученных при реципрокных скрещиваниях между несколькими расами *Epilobium* [521a]

Гибриды от скрещиваний			Высота растения	Содержание воды	Активность пероксидазы	Активность каталазы
Афганистан ♀	× Йена ♂	97—110	—	122	91
Тюбинген ♀	× Йена ♂	69—86	100	54	—
Штутгарт ♀	× Йена ♂	33—43	97	37	14
Мюнхен ♀	× Йена ♂	31—40	97	37	36
Кэмбридж ♀	× Йена ♂	~27	93	19	25
Лиссабон ♀	× Йена ♂	~10—15	—	12	10
Кан ♀	× Йена ♂	~5	—	8	—

*Цифры выражают процентные отношения, вычисляемые как
 $\frac{\text{Гибриды (1 столбец)}}{\text{Реципрокные гибриды}} \times 100$.

Представленные в табл. 47 реципрокные скрещивания проводились с несколькими географическими расами *Epilobium hirsutum* с использованием исходной линии Йена в качестве тест-штамма для сравнения. Как видно из таблицы, между высотой растения и активностью пероксидазы и каталазы в его тканях существует известное соответствие. Эти величины чрезвычайно варьируют в реципрокных скрещиваниях. Так, Афганистан × Йена дает почти одинаковые значения независимо от того, какой штамм является материнским, тогда как гибриды Кан × Йена крайне различны.

Эти данные согласуются с общим положением, предложенным Михаэлисом [410], что при цитоплазматическом наследовании следует принимать во внимание всю клетку. Если это так, то проблема заключается в том, чтобы представить себе метаболические взаимоотношения гораздо более углубленно, чем они нам известны теперь. Сведение цитоплазматической наследственности к действию заметно различающихся цитоплазматических частиц — более простая, но не более обоснованная точка зрения. Большинство исследователей признает, что эти различия могут быть как причиной, так и следствием явления, однако, несмотря на это, исследования общих

метаболических процессов, что была обнаружена. Это особенно верно для высших растений, за исключением у парамеции, к которому относится признак присутствия признака дыхания, касающегося дыхания.

Некоторые биохимические

Показ

Поглощение кислорода, стимуляция поглощения к контролю Угнетение дыхания стромы к контролю Угнетение дыхания азидом к контролю Цитохромоксидаза мид.

Приведенные в таблице различия между штаммами. Особенно существенно, что менее подвержено воздействию согласно ожиданиям, действительно, это действие цитохромоксидазы у штаммов отличается, но отчасти остается неизменным. killer содержат цитохрома, либо это доказано для цитохромов. Для двух штаммов, что цитоплазматическими изменениями характера метаболизма. Особое внимание цитохромным системам. Одним из признаков для митохондрий для того, что цитохром при помощи спек

метаболических процессов или изменений в других системах, кроме той, что была обнаружена впервые, проводились далеко не достаточно. Это особенно справедливо в случае наследования пластид у высших растений, за исключением *Epilobium*.

Было уделено внимание биохимическим различиям, существующим у парамедии, которые могут быть связаны с наличием или отсутствием признака killer [564]. Как показано в табл. 48, эти отличия касаются дыхательных систем, но только в общем плане.

Таблица 48

Некоторые биохимические свойства штаммов killer и чувствительных штаммов у парамедий [564]

Показатель	КК (killer)	КК (чувствительные)	КК (чувствительные)
Поглощение кислорода, мл/час на 1 особь	0,9	0,51	0,52
Стимуляция поглощения кислорода глюкозой, % к контролю	92	130	154
Угнетение дыхания стрептомицином (5 мг/мл), % к контролю	123	—	66
Угнетение дыхания азидом ($2,5 \times 10^{-3}$ М), % к контролю	89	29	60
Цитохромоксидаза мл/час на 1 особь	0,026	0,069	0,075

Приведенные в табл. 48 данные говорят о существовании ощутимой разницы между штаммами killer и чувствительными штаммами. Особенно существенно, что дыхание у штамма killer относительно менее подвержено влиянию добавления глюкозы или азид. Азид, согласно ожиданию, должен инактивировать цитохромоксидазу, и, действительно, этот штамм обладает относительно низкой активностью цитохромоксидазы. Таким образом, очевидно, что характер дыхания у штаммов killer и чувствительных штаммов существенно отличается, но отношение этого к наличию или отсутствию капчастец остается неизвестным. Эти данные указывают, что либо штаммы killer содержат более низкую концентрацию концевой оксидазы цитохрома, либо эта система является аномальной, как это было доказано для цитоплазматического наследования у дрожжей и нейроспоры. Для двух последних организмов экспериментально показано, что цитоплазматическое наследование сопровождается разнообразными изменениями в химическом составе и, следовательно, в характере метаболизма.

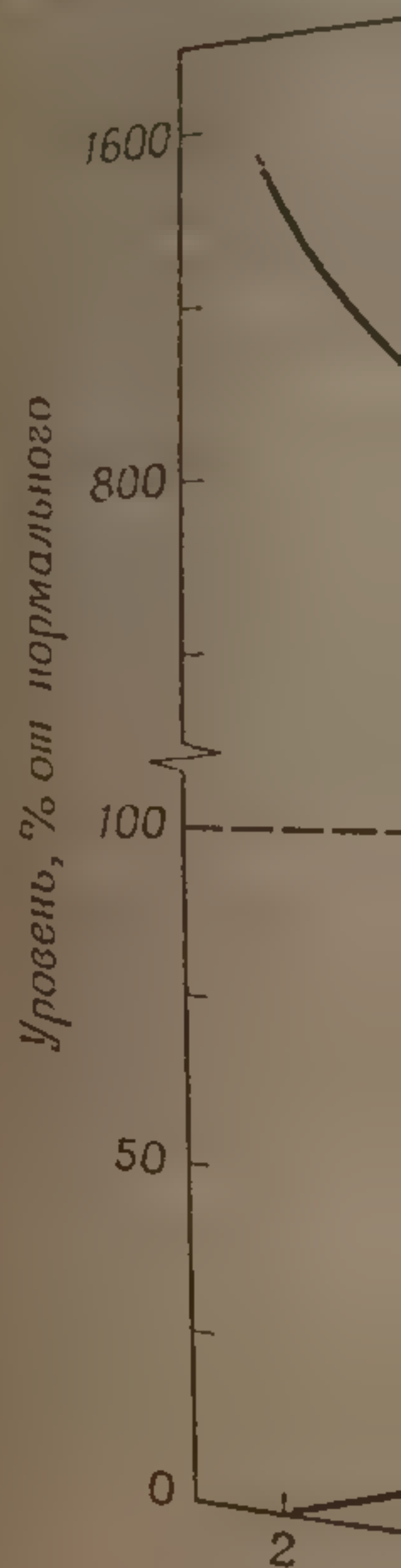
Особое внимание было уделено свойствам митохондрий, особенно цитохромным системам, которые содержатся в этих дискретных тельцах. Одним из поводов к этому является легкость получения митохондрий для определения ферментативной активности, а также то, что цитохромы могут быть определены прямо в цельной ткани при помощи спектроскопа. Сводка данных по составу цитохромов

для нескольких штаммов дрожжей и нейроспоры представлена на фиг. 98. Как указано, часть признаков наследуется через цитоплазму, а другая — через хромосомы [426, 429]. Эти данные показывают, что до некоторой степени сходные и весьма поразительные изменения в составе митохондрий могут наступать в результате как негенных, так и генных изменений. То, что системы, обусловленные этими двумя видами изменений, могут взаимодействовать с образованием нормального фенотипа, показано на дрожжах при скрещивании «вегетативного карликового» с «расщепляющимся карликовым». Образовавшаяся таким образом диплоидная зигота содержит мутантный и нормальный аллели исследуемого гена и смесь цитоплазм. В результате их взаимодействия образовались митохондрии, нормальные в отношении цитохромов, как показано на схеме. Это указывает, что в двух линиях дрожжей поражены различные функции, необходимые для построения митохондрий и контроля над ним, так как каждая из линий восполняет нехватку у другой.

У нейроспоры смешанные культуры, в которых должны возникнуть гетерокарионы; содержащие смешанные ядра и цитоплазму, давали или року, или дикий фенотип. Это особенно интересно в связи с взаимодействием между штаммами, обладающими цитоплазматическим наследованием [218]. Наличие гетерокариоза было доказано благодаря использованию маркирующих генов, но о смешении цитоплазмы можно было судить только потому, что, как известно, у плесневых грибов имеет место слияние гифов, смешение цитоплазмы и ядер.

Эти результаты показывают, что цитоплазматические признаки медленно растущего штамма иногда доминируют над признаками штамма, растущего более быстро. Рациональная биохимическая основа этого на примере комбинации року — дикий тип была выявлена при изучении свойств митохондрий, выделенных из этих штаммов. Было показано, что частицы штамма року в противоположность частицам из дикого типа обладают мощной ферментной системой, разрушающей цитохромы (цитохромаза). Это объясняется отчасти протеолитическим действием; в самом деле частицы из року переваривают, по существу, все собственные белки в короткое время, тогда как частицы из дикого типа остаются относительно неизменными при тех же условиях (37° и pH 7,0) [418]. Находясь в смеси с частицами дикого типа, року переваривают как их, так и самих себя. Если это протеолитическое действие имеет место *in vivo*, то не вызывает удивления, что признак року доминирует над признаками дикого типа. Бесструктурные фракции как року, так и дикого типа содержат органическое вещество низкого молекулярного веса, которое тормозит протеолитическое действие, проявляемое изолированными частицами року. Таким образом, реакция *in vivo* протекает достаточно медленно, позволяя накапливаться цитохрому у року, но она может быть достаточно быстрой, чтобы оказывать сильное влияние на характер цитоплазмы в смеси дикого типа и року.

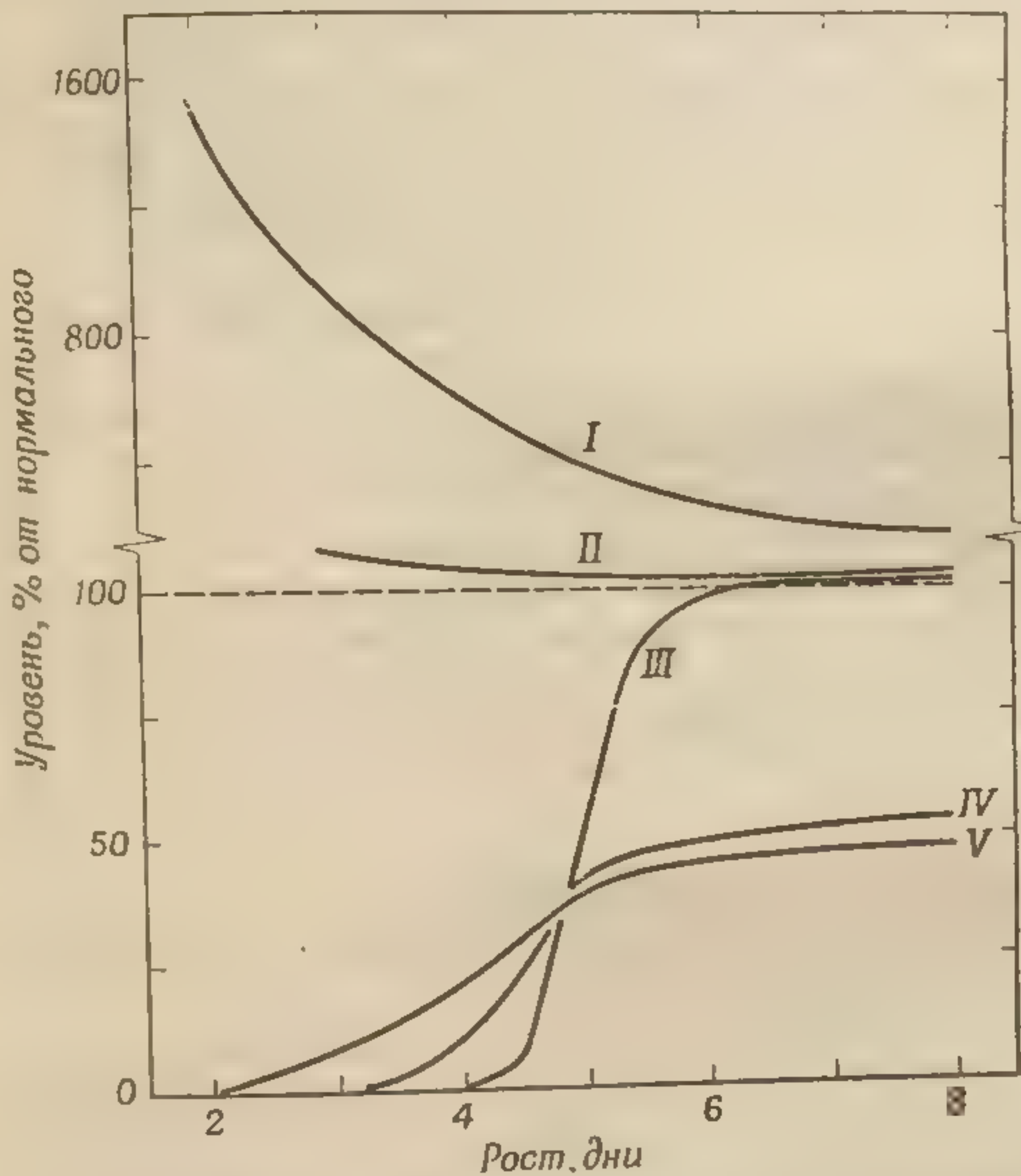
Прессм...
Крупные частицы
кого типа, помимо про
отношениях. Будучи н
жат избыток флавиноид
сахаридом [655]. Они с



Фиг. 99. С
I — цитохром с;
IV — цитохромокси
ченны прерывист

компонентов сукцино
вод на основании обн
цитохромов. Интерес
такта року в митохонд
ности сукцинооксидази
на фиг. 99. При стар
стема все более прибр
В то же время реакц
на столько низко, что
нения в целом можн
лят из старой культу

Крупные частицы мутанта року отличаются от таковых из дикого типа, помимо протеолитических свойств, в некоторых других отношениях. Будучи изолированы из молодых культур, они содержат избыток флавинадениндинуклеотида, но бедны РНК и полисахаридом [655]. Они отклоняются от нормы также и в отношении



Фиг. 99. Сравнение нейроспор дикого типа и року.
I — цитохром *c*; II — сукциндегидраза; III — сукциноксидаза;
IV — цитохромоксидаза; V — рост. Характеристики дикого типа обозначены прерывистой горизонтальной линией, принятой за 100 %.

компонентов сукциноксидазной системы, о чем можно сделать вывод на основании обнаруживаемого в целом плесневом грибе набора цитохромов. Интересно, однако, отметить что в течение роста мутанта року в митохондриях происходят изменения в составе и активности сукциноксидазной системы [264]. Эти изменения суммированы на фиг. 99. При старении культуры плесени сукциноксидазная система все более приближается к норме, но никогда не достигает ее. В то же время реакция цитохромазы изолированных частиц падает настолько низко, что ее уже нельзя обнаружить. Этот процесс изменения в целом можно воспроизвести, если взять маленький инокулят из старой культуры, но при большом инокуляте он протекает не

так медленно. Как видно, активность дегидразы янтарной кислоты у штамма року в основном нормальна в различных возрастах. Напротив, штаммы дрожжей с нарушениями в цитохромной системе, касающимися пигментов, отличаются также недостаточностью в сукциндегидразе.

Эти различные наблюдения над свойствами митохондрий различных штаммов не свидетельствуют о том, что эти тельца обладают статической стабильностью и что их можно рассматривать в качестве геноподобных цитоплазматических единиц, но они обладают, по-видимому, динамической стабильностью, которая может играть роль в наследовании. В этом случае, конечно, стабильность должна зависеть от быстрого взаимодействия с другими компонентами цитоплазмы.

Помимо изменения признаков крупных клеточных частиц, которые сопровождают внехромосомное наследование, описанное у дрожжей и нейроспоры, были найдены большие различия в составе более растворимых фракций цитоплазмы. Некоторые из них отражают особенности дыхания целых клеток и бесклеточных экстрактов, хотя качественно эти исследования просто подтверждают наблюдения по изменению цитохромной системы [654]. Нормальный и карликовый штаммы дрожжей обнаруживают сходную дыхательную активность в анаэробных условиях, но в присутствии кислорода, когда необходима активность системы оксидазы конечного цитохрома, нормальные дрожжевые клетки проявляют большую дыхательную активность, которая тормозится цианидом или азидом.

Сходное положение наблюдается в отношении штаммов року и дикого типа у нейроспоры с той разницей, что этим организмам необходим доступ кислорода. Дыхание молодых в отличие от дыхания старых особей року не тормозится азидом или цианидом, а скорость поглощения кислорода составляет около трети таковой особей дикого типа. Дыхание у нормального штамма тормозится цианидом или азидом примерно на 80%. Штамм нейроспоры *mi-3* подобен дикому типу в том отношении, что его дыхание тормозится цианидом, азидом или окисью углерода, но оно более чувствительно к ингибиторам, чем дыхание дикого типа. Кроме того, свойства системы конечной оксидазы, которые, очевидно, зависят от цитохрома a_1 , связывающего кислород, не изменяются значительно во время роста культуры, как это найдено у дикого типа, но не у штамма року.

Кроме этих различий в дыхании, сопровождающих изменения, наследуемые через цитоплазму, были сделаны наблюдения над изменениями активности или концентрации ферментов в отношении различных клеточных компонентов. У дрожжей наряду с ферментативными различиями, уже отмеченными у аэробных культур нормального и карликового штаммов, карликовый обладает крайне недостаточной активностью дегидразы α -глицерофосфата и редуктазы ДПН-цитохрома *c*; он обладает новой активностью редук-

тазы яблочной кислоты двойной изомеризации. Активность аконитической кислоты у этого штамма дрожжей, но обнаружена в гранулах клеточных фракций пониженной плотности.

Сведения о сродстве не считая данных о дрожжах, указывают на то, что и диких типов не кратных; однако, лены неоднородности сомных генов. Активность примерно на 50% что молодые особи сухого веса гриба фракциях ДНК и нет указаний на содержание ДНК и дикого типа пр клетках различного року относительно. С другой стороны, бифлавины и ниацина был найден в вин (в форме флавинов).

На основании этих данных можно и распределить споры, парамедии одним из свойств перераспределения катализаторов широко распространены по многим хромосомное на этого явления тельны. Сами по себе цитоплазматического центра клетки так и следствием механизма этого явления.

тазы яблочной кислоты цитохрома с, не зависящей от ДПН, и содержит двойной избыток дегидразы молочной кислоты. Кроме того, активность аконитазы, фумаразы и дегидразы ДПН-изолимонной кислоты у этого штамма в 2—5 раз ниже, чем у нормального [280]. Большая часть этих ферментов находится в растворимой фракции дрожжей, но обнаружимые их количества находятся также в крупных гранулах клетки; у карликового штамма активность обеих фракций понижена.

Сведения о сравнительном распределении различных ферментов, не считая данных по большинству ферментов, изученных у дрожжей, указывают на различия в активности между штаммами року и диких типов нейроспоры, достигающие у некоторых из них двукратных; однако не было доказано, что эти различия не обусловлены неоднородностью изучавшихся штаммов в отношении хромосомных генов. Активность щелочной фосфатазы была постоянно выше примерно на 50% в различных повторных пробах року. Оказалось, что молодые особи року содержат на 30% больше ДНК на единицу сухого веса гриба, чем особи дикого типа. Вместе с тем в неядерных фракциях ДНК не было обнаружено вовсе; таким образом, у нас нет указаний на существование в цитоплазме нейроспоры частиц, содержащих ДНК. Общее содержание РНК и полисахарида у року и дикого типа приблизительно одинаково, но распределение их в клетках различно. Большие гранулы, или фракция митохондрий, у року относительно беднее (в два раза или более) этими веществами. С другой стороны, року содержит примерно вдвое больше рибофлавина и ниацина по сравнению с диким типом; избыток ниацина был найден в растворимой фракции, тогда как рибофлавин (в форме ФАД) более или менее концентрирован в митохондриях.

На основании различных данных по сравнительному содержанию и распределению клеточных компонентов у дрожжей, нейроспоры, парамеции и *Epilobium* представляется очевидным, что одним из свойств цитоплазматического наследования является перераспределение концентраций целого ряда метаболитов и активности катализаторов. Это очевидно, несмотря на то, что действительно широких и систематических исследований на этих организмах еще не проводилось и еще очень мало сделано в этом направлении по многим другим видам, у которых было обнаружено внехромосомное наследование. Для получения более полного описания этого явления подобные исследования в высшей степени желательны. Сами по себе они не могут дать объяснения механизму цитоплазматического наследования, так как подобные различия в концентрации клеточных компонентов могут являться как причиной, так и следствием. Значительно более вероятно, что проникнуть в механизм этого типа наследования удастся в результате исследования самого процесса, но с учетом общих метаболических различий, существующих между штаммами, у которых наблюдается внехромосомная наследственность.

Индукция признаков, наследуемых через цитоплазму

Большинство известных примеров внехромосомной наследственности — спонтанного происхождения, и мы почти ничего не можем сказать об их причине. Предполагалось, что случаи, подобные проявляющимся при межвидовых скрещиваниях у *Epilobium* и *Oenothera*, возникли в результате влияния медленно дивергирующих геномов в различных изолированных популяциях. Таким образом, признаки цитоплазмы в результате последовательных спонтанных мутаций хромосомных генов изменялись столь малыми порциями, что создавалось впечатление почти непрерывного изменения. Разная степень проявления цитоплазматически наследуемых фенотипов в реципрокных скрещиваниях между различными географическими расами *Epilobium hirsutum* служит веским подтверждением существования такого процесса.

Штаммы року и mi-3, возникшие у нейроспоры, были получены при скрещиваниях старых культур штаммов дикого типа. Нет доказательств наличия сколько-нибудь значительной разницы между геномами медленно растущих и диких штаммов, из которых были получены эти культуры, так что, по-видимому, эти изменения цитоплазматических признаков появились довольно быстро без сильного воздействия со стороны хромосом. Однако, как обнаружено у дрожжей, 15-кратная разница в скорости спонтанных изменений нормального признака в вегетативный мелкий является признаком, дающим расщепление в потомстве, как будто эта тенденция к изменению находится под влиянием особого хромосомного гена. Следовательно, определенные геномы более благоприятны для появления изменений, наследуемых через цитоплазму, как показано для дрожжей и кукурузы.

Интересные данные относительно индукции признаков, наследуемых через цитоплазму, были получены при работе с дрожжами [172] и с парамецией [37]. Было показано, что изменение обычных пекарских дрожжей к фенотипу вегетативного карликового может быть вызвано во всех колониях, полученных из одной клетки, если выделять ее в присутствии подходящей концентрации эуфлавина [172]. Кратковременная обработка эуфлавином вызывает образование как нормальных, так и мелких клеток, каждая из которых в свою очередь может образовывать мелкие и нормальные клетки. Это наводит на мысль о том, что производные акридина вызывают неустойчивое состояние в цитоплазме — состояние, которое может затем измениться в направлении к устойчивому нормальному фенотипу и устойчивому мелкому фенотипу. Эти опыты, демонстрирующие влияние чужеродных химических веществ на цитоплазму дрожжей, указывают, что окружающая среда является особенно важным фактором в индукции признаков, наследуемых через цитоплазму. Эти заключения согласуются с результатами, полученными при исследовании влияния изменений среды на антигенную специфичность ресничек у парамеции. Некоторые детали этих опытов при-

Приведены в гл. X. В эволюции наследуемых признаками генами) и что различия изменений температуры, питания телами.

На основании признаков, наследуемых установлении условий относительно условия позволяющие стабильное динамическое размножение и размножение. Подобное толкование наследуемых через механизм процесса участвует расхождение численных единиц, существенные свойства динамического близости могут иметь самые различные размеры.

ведены в гл. X. В этом случае ясно показано, что антигенная специфичность наследуется через цитоплазму (и обусловлена хромосомными генами) и что эти признаки можно изменить посредством различных изменений окружающей среды, в том числе изменений температуры, питания, а также облучением и специфическими анти-телами.

На основании всех этих данных создается впечатление, что признаки, наследуемые через цитоплазму, могут возникнуть при установлении условий, изменяющих скорости реакций одних систем относительно скоростей реакций других систем. Если указанные условия позволяют перевести метаболизм всей клетки в новое стабильное динамическое состояние, благоприятное для выживания и размножения клетки, то новая система сможет закрепиться. Подобное толкование данных, указывающих на природу признаков, наследуемых через цитоплазму, еще не включает описания общего механизма процесса наследования. Мы считаем, что в этом процессе участвует расхождение (происходящее при делении клетки) метаболических единиц, обладающих достаточным влиянием на наследственные свойства данного генома, чтобы вызвать стабилизацию метаболизма определенного типа. Эти единицы, насколько нам известно, могут иметь самые разнообразные размеры — от мельчайших молекул и до размера целой клетки.

Глава XIII

ПРОБЛЕМА МЕХАНИЗМА РАЗВИТИЯ

Все организмы, как одноклеточные, так и многоклеточные, при постоянных или непрерывно изменяющихся условиях окружающей среды подвергаются в течение своей жизни процессу регулярных изменений или развитию. Состояние, достигнутое организмом в процессе развития в какой-либо определенный момент времени, описывается как фенотип.

Термин «фенотип» используется в настоящем контексте в обычном смысле, но это диктуется соображениями удобства и служит лишь для определения состояния непрерывно изменяющейся системы в какой-то момент времени. Аналогичное положение можно представить себе, если изобразить математическое уравнение не полной кривой, а лишь ее частью. Ни один математик не попытается бы проделать этого, но многие биологи старались понять фенотип как следствие особого набора генов без тщательного исследования развития этого фенотипа. Исследование развития должно заключаться не только в его описании, но, что еще более важно, и в изучении механизма, который обуславливает развитие особенностей фенотипа организма. Обе формы исследования предполагают вторжение генетиков в область эмбриологии.

В своих чисто описательных фазах эмбриология и генетика представляют собой две различные дисциплины: в эмбриологии описывается план развития организма, а в генетике — механизм наследования этого плана. Общим для обеих наук являются поиски причинности и механизма развития, и здесь, по-видимому, обе заходят в тупик. Теория гена с ее преформистской основой и новое определение эпигенеза как выражения действия гена позволяют наметить выход из этого тупика. Однако вопрос остается нерешенным, ибо сущность действия гена не ясна и природа взаимодействия предполагаемых генных продуктов в ядре и цитоплазме представляет собой еще область предположений. Эти факторы должны лежать в основе развития, но механизм их действия почти неизвестен.

Предполагая, что рассмотрение процесса развития будет способствовать лучшему пониманию обуславливающих его причин, мы попытаемся представить здесь те стороны механизма развития, которые, как нам кажется, касаются проблемы действия гена в ее современном освещении.

Процесс развития, организации, не являются не общим процессом, а функционированием.

Первому из них, пожалуй, придадим исследованиях. структуре и химических тканях.

отношении многоклеточных организмов, даже у одноклеточных организмов, ренцировка функций.

В развивающемся организме определенной организмы, что находится в определении, но не всегда сдвигается здесь или без увеличения.

Если рассмотреть развитие, общие черты развития очевидны, контролировать: 1) и тканей являющихся; 2) организмов; 3) рост, так как татом которого мером и формами.

Процесс развития — это, вернее, это, внешние он состоит из типов клеток, мышечной и флоры и мезодермы, ренцированные флогически, также и химическую, физиологию, так и их, рН. Оценка этого понимания подробно обсуждается.

НЕКОТОРЫЕ СТОРОНЫ РАЗВИТИЯ

Процесс развития состоит из трех компонентов: дифференцировки, организации и роста. Следует подчеркнуть, что эти процессы не являются независимыми, а представляют собой разные стороны общего процесса, в результате которого получается вполне развитый функционирующий организм.

Первому из этих компонентов — процессу дифференцировки — пожалуй, придают обычно наибольшее значение в эмбриологических исследованиях. Он заключается в прогрессивных изменениях в структуре и химии клетки, в результате которых образуются различные ткани. Хотя этот термин наиболее часто используется в отношении многоклеточных организмов, в широком смысле слова даже у одноклеточных организмов наблюдается известная дифференцировка функций и структуры клетки в течение жизни особи.

В развивающемся организме дифференцировка сопровождается определенной организацией или размещением дифференцированных клеток, что находит свое выражение в морфогенезе или в установлении определенного плана строения в ходе онтогенеза. Это обычно, но не всегда сопровождается ростом — процессом, который определяется здесь как увеличение массы протоплазмы с увеличением или без увеличения числа клеток.

Если рассматривать действие генов в свете трех основных сторон развития, общее представление о которых было дано выше, становится очевидным, что генам присущ ряд функций. Они должны контролировать: 1) дифференцировку, так как образующиеся типы клеток и тканей являются единственными в своем роде для каждого типа организмов; 2) организацию частей, ибо структура и форма наследуются; 3) рост, так как очевидно, что это направленный процесс, результатом которого является возникновение организмов различных размеров и формы, а также соответствующие размеры органов и частей.

ПРОЯВЛЕНИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Процесс дифференцировки у многоклеточных животных и растений — это, вероятно, одна из наиболее эффективных сторон развития. Внешне он состоит в образовании из зиготы четко различающихся типов клеток посредством митозов. Таким образом, клетки нервной, мышечной и эпителиальной ткани животных или клетки коры, флоэмы и мезофилла растений — все происходят из зиготы. Дифференцированные клетки отличаются друг от друга не только морфологически, но в соответствии с их различными функциями также и химически. Эти химические различия затрагивают как физиологию, конституцию, питание и ферментный состав организмов, так и их реакции на факторы среды, такие, как кислород и pH. Оценка значения некоторых из этих различий необходима для понимания процесса дифференцировки, в связи с чем они будут подробно обсуждаться ниже.

Давно известно, что культура тканей *in vitro* требует тщательного внимания к питательной среде, так как ткани отличаются в отношении своих потребностей в питательных веществах как качественно, так и количественно. Это справедливо как для дефинитивных, так и для эмбриональных тканей, находящихся в процессе дифференцировки. Спрэтт [586] показал, что ткань сердца зародыша цыпленка развивается при очень низких концентрациях глюкозы, тогда как нервная ткань не развивается. Для того чтобы началось развитие нервной ткани, необходимо почти вдвое большее количество глюкозы. Эти различные потребности в питательных веществах указывают, конечно, на основные различия в процессе обмена веществ тканей — факт, который демонстрируется более наглядно при изучении подавления роста тканей. Йодацетат, малонат, цианиды и азиды подавляют рост мозга цыпленка, но мало влияют на сердце. Флюориды, с другой стороны, подавляют рост сердечной ткани, но не влияют на мозг [587]. Интересен результат этих исследований на ткани зародыша цыпленка: оказалось, что эмбриональная ткань реагирует на питательные вещества и ингибиторы так же, как и ткань взрослого организма. Отсюда можно сделать предварительное заключение, что характер обмена веществ молодых развивающихся тканей сходен с характером обмена веществ, необходимым для поддержания существования дефинитивных тканей [582, 586, 587].

Можно предположить, что различия в обмене веществ отражают различия в ферментативной активности. В табл. 49 представлены данные, показывающие правильность этого предположения. Активность большей части ферментов совершенно различна в различных органах одного и того же животного.

Таблица 49
Величина относительной ферментативной активности различных тканей крысы, мыши и карпа

Фермент	Животное	Печень	Почка	Скелетные мышцы	Селезенка	Мозг
Альдолаза	Крыса	12 100	7800	74 000	4800	15 800
Оксидаза d-аминокислот	»	15—13	108—132	—	—	—
Трансаминаза системы глутаминовой и щавеле- воуксусной кислот ...	»	245	245	316	16	260
Рибонуклеаза	»	0,37	1,63	—	2,06	—
Аконитаза	»	62	80	—	—	10
Тиаминаза	Карп	2,5	1,34	0	25	0,21
Пептидаза (субстрат гли- цилдегидроаланин) ...	»	60	1,620	—	—	—
Каталаза	Мышь	8,00	3,20	0,01	0,12	0,00
Дегидраза молочной кислоты	»	428	369	972	144	228
Цитохром c ($\mu\text{г}/\text{мг}$ сухого веса)	Крыса	0,607	1,433	0,381	0,05 (кожа)	—

В некоторых случаях может быть определено, возможны ли эти процессы. Некоторые процессы даны в табл. 50.

Концентрации не

Флавинадениндинуклеотид
Аденозинтрифосфат, мг Р/100
Фосфокреатин, мг Р/100

Полагают, что в цитоплазматических реакциях, в некоторых поглощениях клетками, очевидно, источниками опорожнения у животных желез, которые физиологически влияют на действие по крайней мере определенного тонкой кишки и желудка, ферментов, несомненно, в организме всасывания кишечника.

Антигенные дуумами, рассматривая генную разницу, действительно, в животном-рецидиве, обнаруживаются типы тканей, индивидуальные, все ткани, или ткани. Они экстрактах толстых кишечника [157] и Вейсвающего цыпленка.

В некоторых случаях, когда известная простетическая группа может быть определена непосредственно в количественном отношении, возможны более точные определения присутствия ферментов. Некоторые примеры различий в концентрации кофакторов даны в табл. 50.

Таблица 50

Концентрации некоторых существенных кофакторов в тканях крысы

	Печень	Почка	Скелетные мышцы	Мозг
Флавинадениндинуклеотид, мг/кг веса	45	20	—	—
Аденозинтрифосфат, мг Р/100 г ткани	0,5—1,5	2,7	40—50	9—12
Фосфокреатин, мг Р/100 г ткани	6—10	2,5—4	40—50	1,5—7,5

Полагают, что различия в синтетической способности дифференцированных клеток являются результатом измененного обмена веществ, проявляющегося в форме, химическом составе, физиологических реакциях, секреторной способности и т. д. Хотя определенные различия в содержимом клеток могут быть отнесены за счет некоторых поглощенных и запасных веществ, синтезируемых всеми клетками, очевидно, что многие клетки являются единственными источниками определенных веществ. Например, образование гормонов у животного является результатом деятельности эндокринных желез, которые вырабатывают специфические гормоны со специфическими физиологическими свойствами. Способность реагировать на действие этих гормонов путем физиологической реакции по крайней мере в обнаружимой степени также специфична для определенного типа тканей. Так, секретин, образуемый слизистой тонкой кишки позвоночных, очевидно, воздействует только на поджелудочную железу, стимулируя выделение пищеварительных ферментов, несмотря на то, что секретин распространяется по всему организму вскоре после поступления пищи из желудка в тонкий кишечник.

Антигенные различия, существующие между разными индивидуумами, рассматривались в гл. VI, но там не было указаний на антигенную разнородность, которая может иметь место внутри особи. Действительно, давно уже известно, что антитела, индуцированные в животном-реципиенте антигенными компонентами неродственного донора, обнаруживают значительные различия в зависимости от типа ткани, из которой были выделены антигены. Хотя каждый индивидуум, по-видимому, имеет некоторые антигены, общие для всех тканей, образуются также антигены, специфичные для органа или ткани. Они специфичны не только в том смысле, что находятся в экстрактах только определенного органа, но антитела к ним обладают определенным специфическим действием на тот же самый орган. Эберт [157] и Вейс [682] показали подобное действие антител на развивающегося цыпленка. Эберт показал, что антитела, образуемые у

кроликов при введении экстрактов селезенки, сердца и ткани мозга цыплят, оказывали различное влияние на развитие бластодермы цыпленка. Антисыворотки к ткани селезенки и печени поражали главным образом мезодермальные элементы, тогда как антисыворотка в мозгу препятствовала развитию нервной ткани. Антисыворотки к ткани селезенки и сердца оказывают различные воздействия на мезодермальные производные, так как сердце может нормально развиваться в бластодерме в присутствии антисыворотки к ткани селезенки, но не в присутствии антисыворотки к ткани сердца.

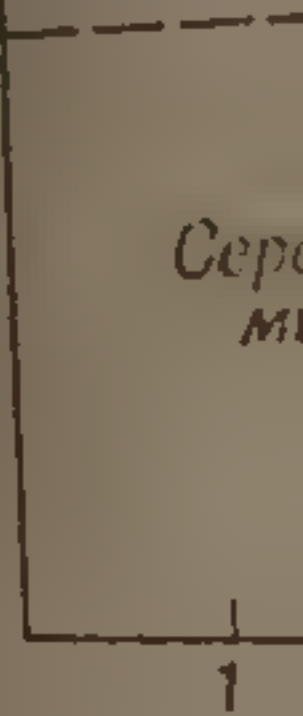
Эти наблюдения наглядно показывают значительное химическое и физиологическое различие между тканями, возникающее в результате дифференцировки. Эти различия, столь четкие среди тканей взрослого организма, можно обнаружить даже на очень ранних стадиях эмбрионального развития, когда впервые появляются химические различия, хотя морфологические отличия могут быть незначительны. Некоторые антигенные различия обнаруживаются в зародыше цыпленка очень рано, а определенные органоспецифические антигены можно обнаружить даже раньше, чем появляется зачаток органа, с которым связан антиген [157].

Количественные ферментативные различия становятся также очевидными на ранних стадиях развития, когда активность ферментов начинает достигать уровней, характерных для тканей взрослого организма. Муг [437] в своих исследованиях по распределению щелочной фосфатазы в тканях зародыша цыпленка на разных стадиях развития представил ясные доказательства этого. Как показано на фиг. 100, активность этого фермента в «недифференцированной ткани» удерживается на относительно постоянном уровне. Однако при дифференцировке тканей наблюдается подъем или падение основного уровня активности в каждой ткани, которая начинает отделяться от недифференцированной массы и приобретать определенные отличия. Изменение уровня активности фермента в каждой ткани происходит в направлении уровня (высокий, низкий или промежуточный), характерного для вполне развитых тканей. Ферменты, важность которых для функционирования ткани во взрослом организме известна, могут обнаружить соответствующий уровень активности в этой ткани задолго до того, как она станет выполнять свою роль во взрослом организме. Щелочная фосфатаза всегда присутствует в высокой концентрации в слизистой кишечника, где она связана с функциями переваривания и поглощения. В зародыше цыпленка ее концентрация в слизистой кишечника начинает возрастать в течение третьей недели инкубации и превышает концентрацию, характерную для цыпленка ко времени вылупления, так что появившийся цыпленок хорошо подготовлен к перевариванию и усвоению пищи, поступающей через пищеварительную систему.

Следовательно, очевидно, что в качестве части процесса дифференцировки происходит накопление фермента, необходимого для функционирования во взрослом организме, до соответствующего уровня, прежде чем орган или ткань начнут выполнять свою функ-

цию. Хотя всех эф-
ментные системы
виваться вместе с
тем не менее важ-
что в ином случае
Региональные
свойств возникаю-

Ферментативная активность

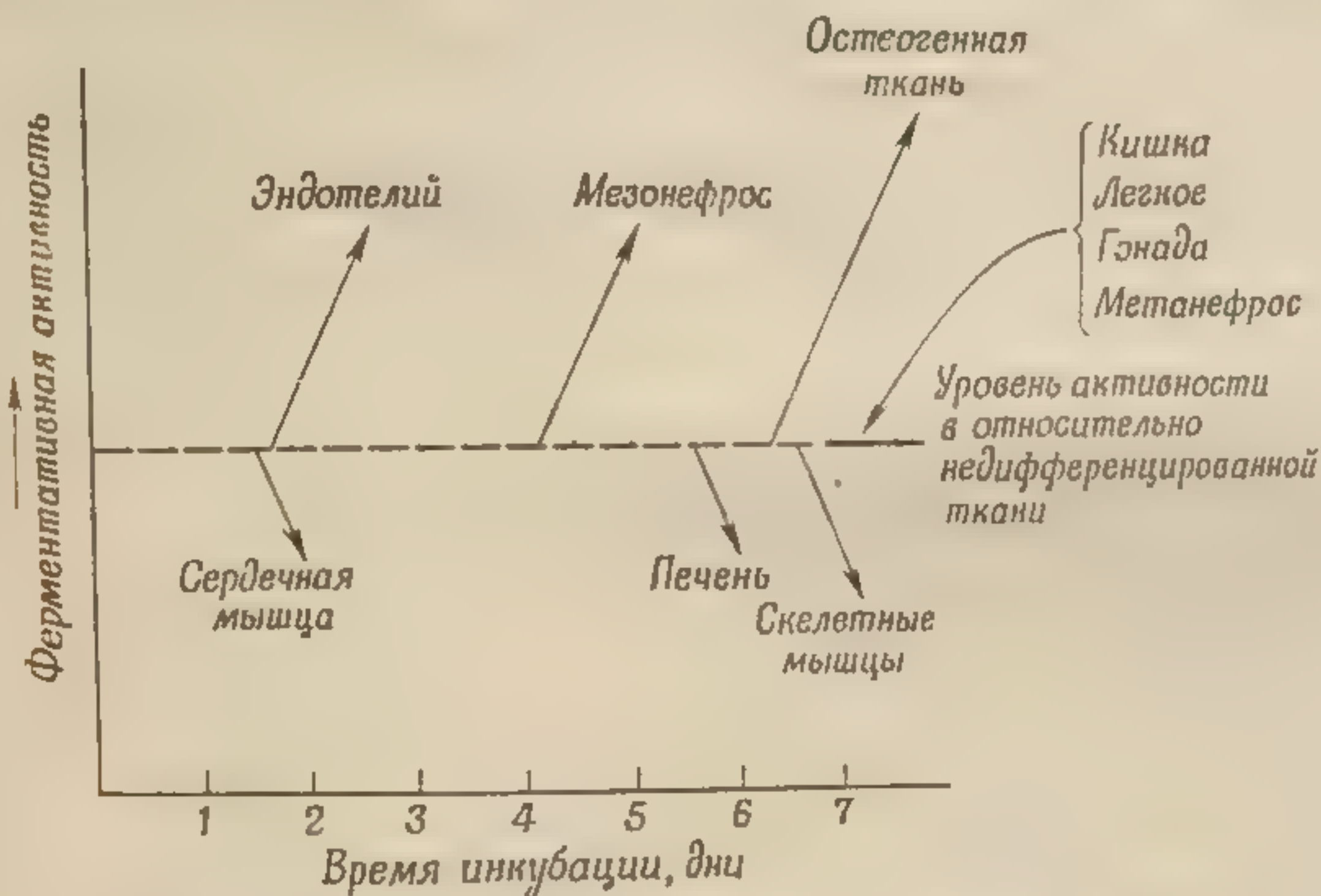


Фиг. 100
течение
Стрелки пока-
зывают уровни, набл-

химической диф-
ровка должна
нальных различ-
ричным морфол-
всегда вопрос:
видимому, это
роли генов при-
ведет к образо-
не менее теорет-
является единс-
во время разви-
дыдущему утв-
активность. На-
фикации дейст-
валось в гл. X
средой подразу-
чале как прот-
целом.
иск-

цию. Хотя всех этих результатов и следовало ожидать, так как ферментные системы являются основой тканевых функций и должны развиваться вместе с развитием ткани как часть ткани, они (результаты) тем не менее важны, ибо служат частичным подтверждением того, что в ином случае оставалось бы лишь гипотезой.

Региональные отличия морфологических и физиологических свойств возникают, вероятно, только как следствие предшествующей



Фиг. 100. Изменения в активности щелочной фосфатазы в течение первой недели инкубации зародыша цыпленка.

Стрелки показывают направление изменений активности фермента от уровня, наблюдаемого на ранних стадиях развития зародыша и в относительно недифференцированной ткани [437].

химической дифференцировки [668]. Таким образом, дифференцировка должна рассматриваться как процесс возникновения региональных различий в процессе обмена веществ, которые ведут к вторичным морфологическим и физиологическим отличиям. Сразу же встает вопрос: как возникает эта региональная организация? По-видимому, это процесс, контролируемый генами, но рассмотрение роли генов приводит, как кажется, к парадоксу. Дифференцировка ведет к образованию клеток, имеющих различный фенотип, но тем не менее теоретически одинаковый генотип, если считать, что митоз является единственным типом клеточного деления, имеющим место во время развития. Внешне это представляется противоречием предыдущему утверждению, что гены определяют ферментативную активность. На самом деле, однако, если вспомнить данные о модификации действия генов условиями среды, что подробно рассматривалось в гл. X и XI, оказывается, что этого противоречия нет. Под средой подразумевается внутренняя среда, которая существует вначале как протоплазма яйца, а впоследствии как внутренняя среда в целом, а кроме того, и внешняя среда. Именно в этом мы должны искать ответ на вопрос о механизме дифференцировки.

Свойства ядер во время развития

Обычно считают, что во время развития клетки делятся митотически, образуя дочерние клетки с одинаковыми наборами хромосом. Отсюда следует, что ядро высокодифференцированной клетки не отличается от ядра зиготы, из которого оно возникло. В самом деле, имеется достаточно наблюдений и экспериментальных данных, указывающих на то, что это обобщение достаточно приближается к истине при условии, что определение степени различий, существующих между ядрами одной особи, ограничено определенными факторами, которые будут обсуждаться ниже.

Тот факт, что соматическое число хромосом почти всегда равно числу хромосом в зиготе и удвоенному числу хромосом, имеющихся в гаметях, сам по себе является существенным доказательством того, что во время развития неизменно происходит митотическое деление. Однако существуют некоторые отклонения от этого основного правила, и в каждом случае трудно определить, какое из них является существенным, а какое нет.

Хсу и Померат [306] показали, что соматические клетки тканей млекопитающих могут иметь больше или меньше хромосом, чем в характерном для вида диплоидном наборе. Но так как отклонения непостоянны, насколько это может быть определено в предварительных наблюдениях, и случайны по отношению к среднему числу для всех типов ткани, которое рассматривается как диплоидное, Хсу пришел к выводу, что эти отклонения не имеют существенного значения. Другими словами, ткани млекопитающих в основном не отличаются по числу хромосом. Изучение митоза у растений Хаскинсом [308] и Вильсоном, Тсоу и Гиппио [696] показало, что в кончиках корня *Allium* встречаются отклонения в митозе. Эти исследователи предполагают возможность расщепления хромосом, подобного наблюдаемому в мейозе, и возникновения полипloidии и полиплоидии на различных стадиях развития.

Подобного типа наблюдения были сделаны у насекомых и других животных, в процессе развития которых иногда регулярно происходит уменьшение числа хромосом в результате утраты целых хромосом, увеличения и уменьшения ploидности и полипloidии, причем на определенных, характерных для данного вида стадиях. Однако ни одно из этих явлений тем не менее не может рассматриваться как всеобщее или имеющее значение в процессе дифференцировки. Вопрос об их значении остается неясным.

Было проведено много экспериментов, в которых пытались при помощи механических манипуляций выяснить, является ли ядро, присутствующее в делящихся яйцах, тотипотентным, т. е. способно ли оно регулировать процесс нормального развития при перемещении из одной части эмбриона в другую. Эти экспериментальные данные возвращают нас к классическим работам Гертвига [276] и Шпемана [578] с эмбрионами амфибий на ранних стадиях. Посредством неравномерного давления на яйца лягушки Гертвику удалось

изменить нормальное развитие в результате перемещения в результате перемещения яиц, которые делятся, нарушено. Никаким способом отмечено. Шпеман назвал таким образом, Обе половинки показали, что 1) имеет место в 1) половинки, претерпев рез цитоплазматическую половинку. Даже целым рядом перемещений половинку она эмбрион.

Опыты с методом разрушения помощи ультрафиолетовых лучей вплоть до 128-й волны могут замечать нормально [556] иший эксперимент ядрами из клеток внесенными ядрами, смотря на то, поколений.

Эти эксперименты в течение раннего развития управлять развительные генетические взаимодействиями шении этого шворки. Во-первых, перемещенных тканей, мышцы, оказывающиеся, что возможно, что в это время. Во-вторых, из дифференцируемое все держимое все этих тканях с менее нести раз. Вопрос не в различных тканях потенциалность. должен быть развитие явля во время де.

изменить нормальный ход дробления яйца так, что ядра, образующиеся в результате дробления, занимали не те части дробящегося яйца, которые должны были бы занимать, если бы дробление не было нарушено. Никакого влияния на эмбрионы при обработке яиц таким способом отмечено не было. Все они развивались нормально до конца. Шпеман наложил лигатуру на яйцо тритона перед дроблением таким образом, что одна половина содержала ядро, а другая нет. Обе половины были соединены мостиком из цитоплазмы. Он показал, что 1) деление в безъядерной половине отсутствует, но имеет место в половине яйца, содержащей ядро, 2) ядра из половины, претерпевающей дробление, изредка проскальзывают через цитоплазматический мостик в неразвивающуюся безъядерную половину. Даже если эти ядра отделены от исходного ядра зиготы целым рядом поколений, после их проникновения в безъядерную половину она начинает дробиться и дает вполне нормальный эмбрион.

Опыты с аналогичным замыслом, в которых применялся метод разрушения ядер в дробящихся яйцах насекомых при помощи ультрафиолетовых лучей, показали, что у *Platycnemis* вплоть до 128-клеточной стадии неповрежденные ядра путем митозов могут заменить разрушенные ядра, так что развитие протекает нормально [556]. Позднее Бриггс и Кинг [75] поставили завершающий эксперимент. Они удаляли ядра из яиц лягушки и замещали их ядрами из клеток бластулы или гастрюлы. Такие яйца с искусственно внесенными ядрами оказались способными к полному развитию, несмотря на то, что ядра их отделены от ядра зиготы целым рядом поколений.

Эти эксперименты окончательно показали, что по крайней мере в течение ранних стадий развития ядра сохраняют способность управлять развитием в целом начиная со стадии зиготы. Последовательные генерации ядер, образующиеся при обычных митозах, взаимозаменяемы и, следовательно, тотипотентны. Однако в отношении этого широкого обобщения необходимо иметь в виду две оговорки. Во-первых, еще не доказано, что ядра высокодифференцированных тканей, таких, как эпидермис взрослого животного или мышцы, оказывают то же действие, что и ядро зиготы. Таким образом, возможно, что ядра не сохраняют тотипотентности ядра, взятого в это время. Во-вторых, установление тотипотентности ядра, взятого из дифференцированной ткани, не доказывает еще, что ядерное содержание всех тканей идентично в отношении выполняемых им в этих тканях функций. Ядра могут быть тотипотентными и тем не менее нести различные функции в тканях, в которых они находятся. Вопрос не в том, выполняет ли хроматин различные функции в различных тканях, а в том, утрачивает ли он в ходе развития свою тотипотентность. В настоящее время ответ на этот вопрос, очевидно, должен быть отрицательным. Теория Вейсмана, согласно которой развитие является результатом расщепления ядерного содержимого во время деления клетки, следовательно, неверна, и внимание

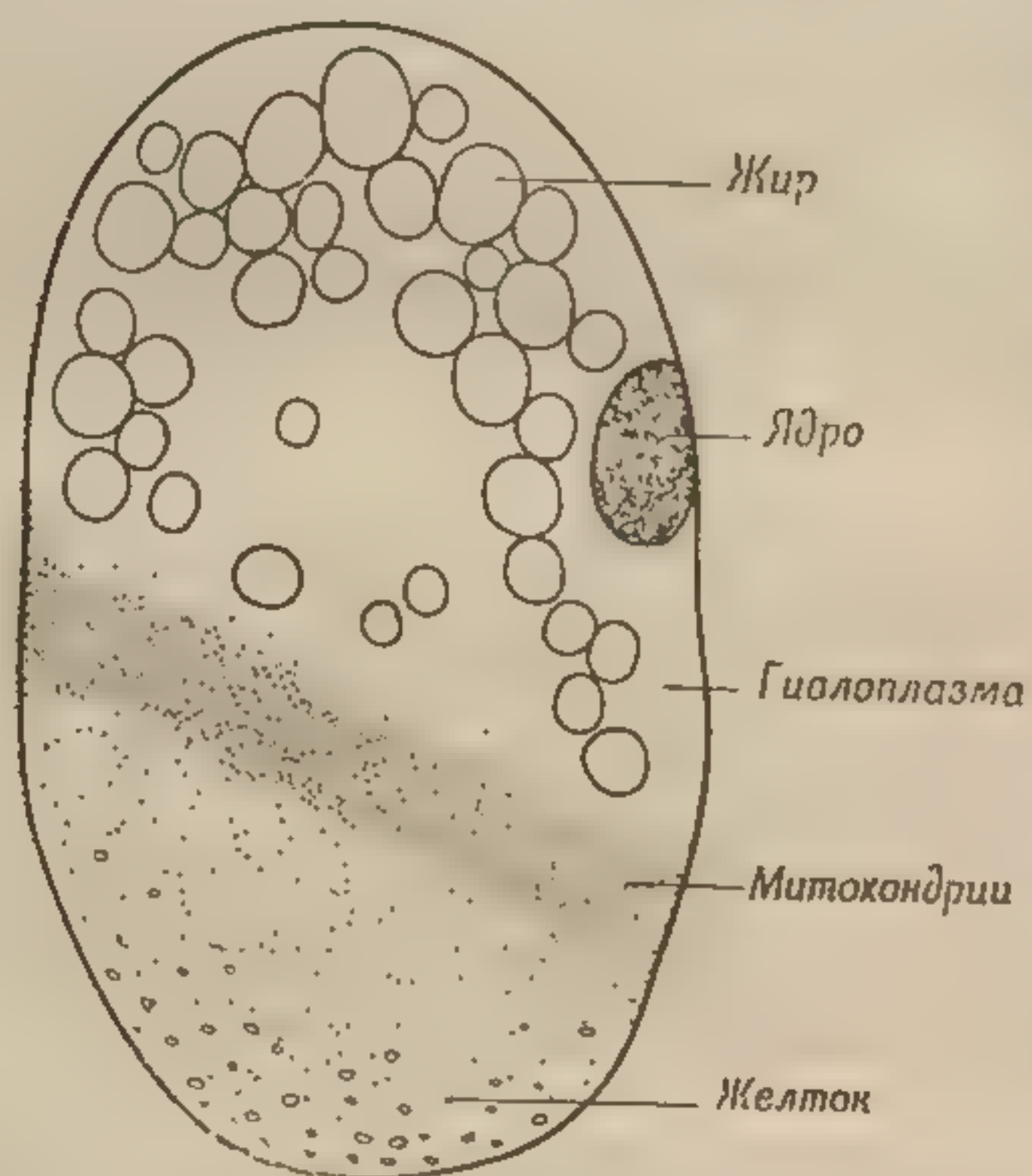
исследователя должно быть сосредоточено скорее на цитоплазме, чем на ядре, как на наиболее непосредственном источнике изменчивости в соматических клетках особи.

Установление различий на ранних стадиях развития

Местные химические различия в цитоплазме оплодотворенного яйца не всегда очевидны. Тем не менее химические различия в различных участках цитоплазмы могут легко привести к непосредственным

изменениям в действии гена в участках, отделившихся во время деления. Таким образом, ядра с одинаковым генотипом, возникшие посредством митотических делений из одного ядра зиготы, могут, очевидно, попадать в различные условия.

В яйцах животных обычно отмечается высокая степень локализации цитоплазматических структур, что становится особенно заметным после центрифугирования (фиг. 101). В большей части их, как и в зрелых клетках, видны митохондрии, а липиды могут встречаться в виде капелек. Кроме того, яйца многих видов содержат пигмент и желточные гранулы, которые могут быть распределены в цито-



Фиг. 101. Яйцо улитки *Limnaea stagnalis* после центрифугирования [506].

плазме равномерно или локализоваться в особых участках яйца, или дисках. Периферическая часть всех яиц образует гелеобразный кортикальный слой, который может быть отделен от более жидкой внутренней части при помощи различных методов. У некоторых животных плотная оболочка может быть дифференцирована на различные в морфологическом и физиологическом отношении зоны, которые, как было показано, могут играть существенную роль в последующем развитии яйца. Примером таких изменений оболочки может служить серый серп (см. стр. 367) у амфибий, несколько сходный желтый серп у асцидий и полярность плазмы у моллюсков.

Много внимания уделялось распределению видимых цитоплазматических включений внутри яйца. Были сделаны попытки связать их часто неравномерное распределение в делящихся клетках или бластомерах с ходом развития различных бластомеров. Для того чтобы переместить видимые включения в положение, которое они не зани-

мают в интактных яйцах, в процессе дробления, в которых обычно оказывали определяющее влияние, что мало бы ожидать, что развиваясь в том же направлении, если бы потерявшие их, если бы таты большей части эмбрионального материала, незначительное влияние. В опытах центрифугирования, это нарушение специфическим изменением иногда осложнялось. Ческие гранулы могут центрифугирования даже после деления, к

Тот факт, что в выделении и нормальном развитии, служит достаточным фактом локализация по определенному влиянию не играют никакой роли, что их распределение могут играть. В этой игре существенную роль играют фугирование не оказывая своей неэластичности, развития, вопреки дей-

Хотя описанные выше факты, что цитоплазма в ранней дифференциации, поставленные несколько доказательств значимости и брюхоногих моллюсков, образующихся. Образование рваной личинки и только координация совершенная пространственно друг друга. Можно пронумеровать последовательных делений и органов. И з бластомер, определяя особенности, идет на и таким образом буду-

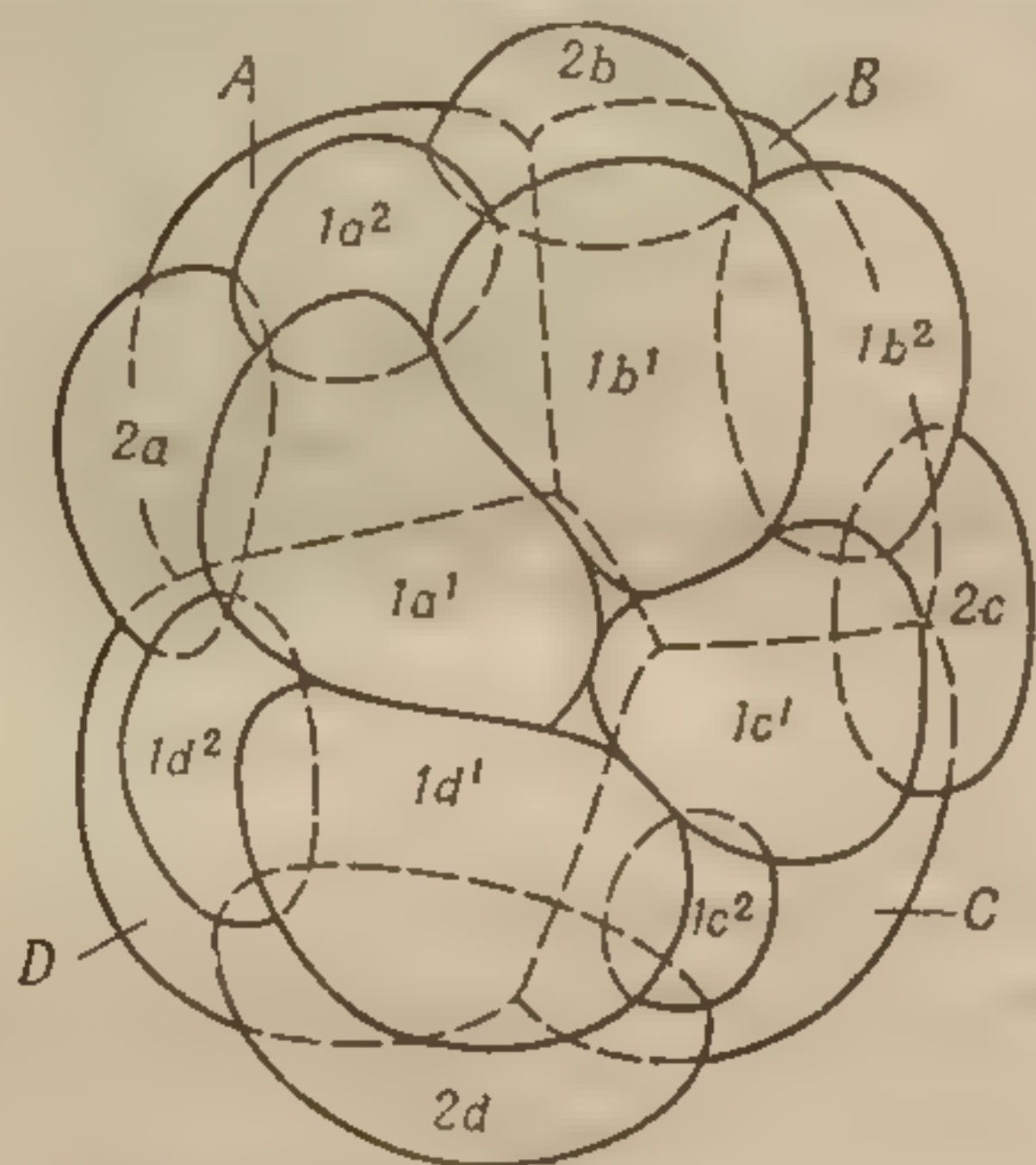
мают в интактных яйцах, последние центрифугировались. В результате в процессе дробления включения распределились в тех бластомерах, в которых обычно они не локализируются. Если бы включения оказывали определяющее влияние на судьбу бластомеров, то следовало бы ожидать, что бластомеры, получившие включения, будут развиваться в том же направлении, как развивались бы бластомеры, потерявшие их, если бы в них оставались эти включения. Результаты большей части экспериментов показали, однако, что перераспределение жировых включений, желтка и пигментов оказывает незначительное влияние на ход развития эмбриона. Хотя в некоторых опытах центрифугирование привело к полному нарушению развития, это нарушение нельзя было связать с каким-либо видимым специфическим изменением в распределении гранул. Опыты этого рода иногда осложняются тем, что во многих яйцах цитоплазматические гранулы могут перемещаться со своих обычных мест после центрифугирования до начала деления, а в некоторых случаях даже после деления, как у моллюска *Limnaea stagnalis* [506].

Тот факт, что в высокой степени мозаичные яйца претерпевают дробление и нормальное развитие при явно имеющемся еще расслоении, служит достаточным доказательством того, что у некоторых форм локализация по крайней мере видимых гранул не оказывает определяющего влияния на ход развития. Это не означает, что они не играют никакой роли в развитии, а свидетельствует лишь о том, что их распределение не существенно для той роли, которую они могут играть. В этой связи следует отметить, что оболочка может играть существенную роль в дифференцировке, на которую центрифугирование не оказывает влияния, поскольку оболочка, вследствие своей неэластичности, сохраняет организацию, необходимую для развития, вопреки действию центробежных сил.

Хотя описанные выше эксперименты непосредственно не доказывают тот факт, что цитоплазматические включения имеют какое-либо значение в ранней дифференцировке, другие наблюдения и опыты, поставленные несколько иначе, но с той же целью, дали решающие доказательства значимости цитоплазмы в развитии. У кольчатых червей и брюхоногих моллюсков (улитки и т. д.) судьба бластомеров, образующихся на ранних стадиях развития, детерминирована. Образование особых органов или частей полностью сформированной личинки из клеток, возникающих при последующих делениях бластомеров, предопределено. При делении имеет место не только координация между делящимися клетками, но и почти совершенная пространственная организация бластомеров относительно друг друга. Бластомеры наиболее ранних стадий развития можно пронумеровать, их потомков можно проследить через ряд последовательных делений до тех пор, пока они не входят в состав тканей и органов. И затем можно установить, какой специфический бластомер, определяемый по положению или даже по физическим особенностям, идет на образование определенных участков личинки, и таким образом будущая судьба каждой клетки может быть очер-

чена с достаточной степенью точности, начиная с ранних стадий развития, что показано на фиг. 102.

Хотя эти наблюдения и представляют интерес, показывая высокую степень организации, достигаемую на ранних стадиях развития, они вовсе не доказывают сами по себе, что бластомеры непременно предназначены для выполнения определенных функций в развитии. Их судьба может быть детерминирована только положением относи-



Фиг. 102. Шестнадцатиклеточная стадия кольчатого червя *Nereis* [694]. Бластомеры пронумерованы согласно принятой схеме, указывающей их происхождение. D — дает начало мезодермальным элементам, таким, как стенки целома, гонады, продольные мышцы, а также части пищевода; 2d — образует брюшной нервный ствол и круговую мышцу; клетки, обозначенные 1a², 1b², 1c² и 1d², образуют ресничный венчик личинки.

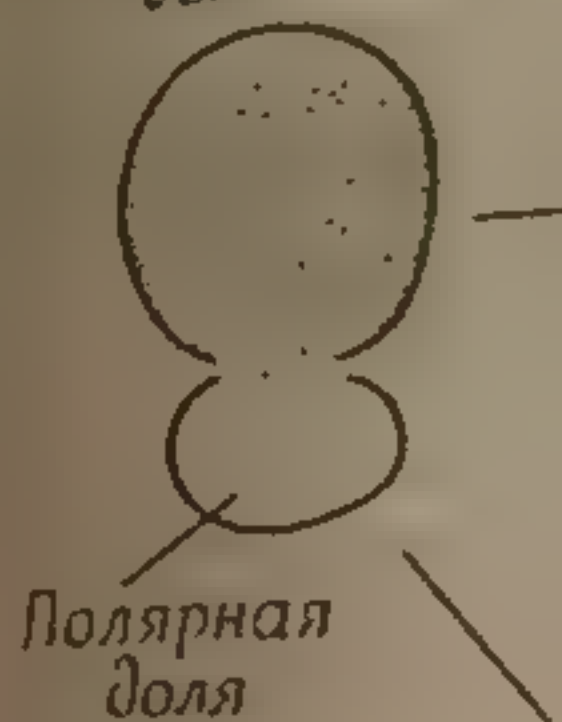
тельно друг друга, но не каким-либо внутренним различием, первоначально присущим каждому бластомеру. Опыты, поставленные для проверки этого важного положения, окончательно показали, что удаление или разрушение бластомеров у кольчатых червей и брюхоногих моллюсков вызывает тяжелые нарушения в ходе развития. Часть организма, обычно развивающаяся из бластомера или бластомеров, которые удалены, в данном случае не развивается, в результате чего образуются неполностью развитые личинки или взрослая особь. На фиг. 103 показаны результаты удаления полярной доли яйца на стадии первого деления у *Dentalium*. Образуется личинка, полностью лишенная мезодермы. Менее резкие влияния можно наблюдать, удалив бластомеры на более поздних стадиях развития. Сход-

ные результаты наблюдались на большом количестве других брюхоногих, кольчатых червей, некоторых асцидий и гребневиков. Установлено также, что изолированный одиночный бластомер продолжает развиваться, делиться и дифференцироваться, но образует только ту часть эмбриона, которую он бы образовал, если бы оставался частью целого.

Трудно избежать заключения, что у этих беспозвоночных бластомеры обладают врожденной способностью самодифференцироваться в определенном направлении и что роль одного из них не может выполняться другим. Ко времени начала дробления яйца этих форм должны достичь такой степени организации, которая определяет локализацию веществ и свойств. Дробление, по-видимому, разделяет эти гетерогенные элементы и, таким образом, детерминирует ход развития каждой части. Это может считаться доказательством того, что дифференцировка является по крайней мере отчасти результатом неравномерного распределения метаболических способностей цитоплазмы.

Исследования таких, как иглокожих, интерпретируемое, что развитие может быть достигнуто, чем у организмов. Если у такового два бластомера

Начало первого деления



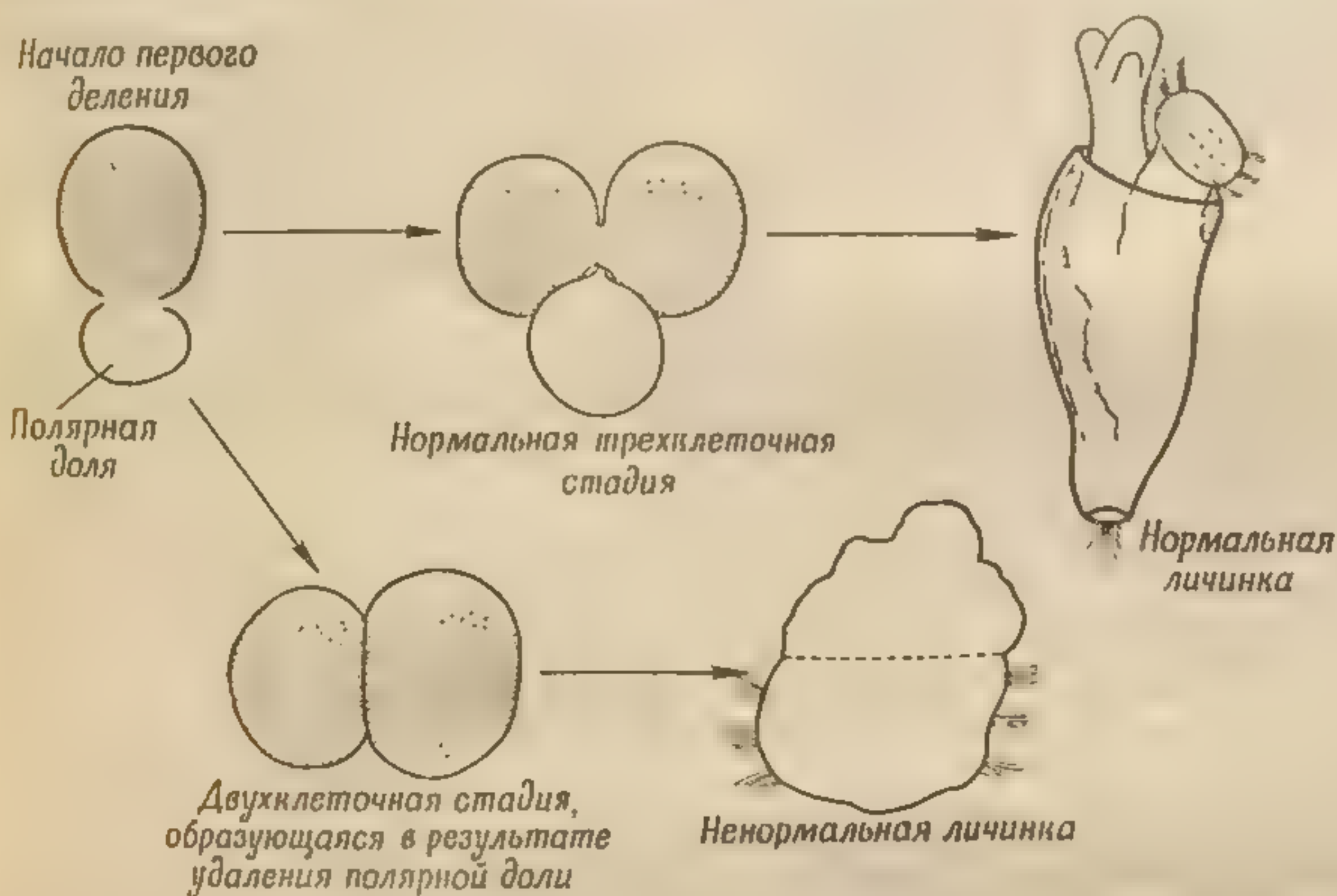
Дву-образу-удал

Фиг. 103. Влияние

то каждый из вдвое меньшую пополам клетки плоскости, при (фиг. 104, А), того, удалении ствует развитие заменить бласто в отношениях с образом, совпадают к разному. необратимо. на яйцах моллюсков дробления меры названы восстановлением части степени спо-

Исследования яиц и ранних стадий развития других животных, таких, как иглокожие и амфибии, привели к результатам, которые интерпретируются, по существу, точно так же, если считать установленным, что разнородность бластомеров у некоторых организмов может быть достигнута несколькими иными путями и на других стадиях, чем у организмов, описанных в предыдущих разделах.

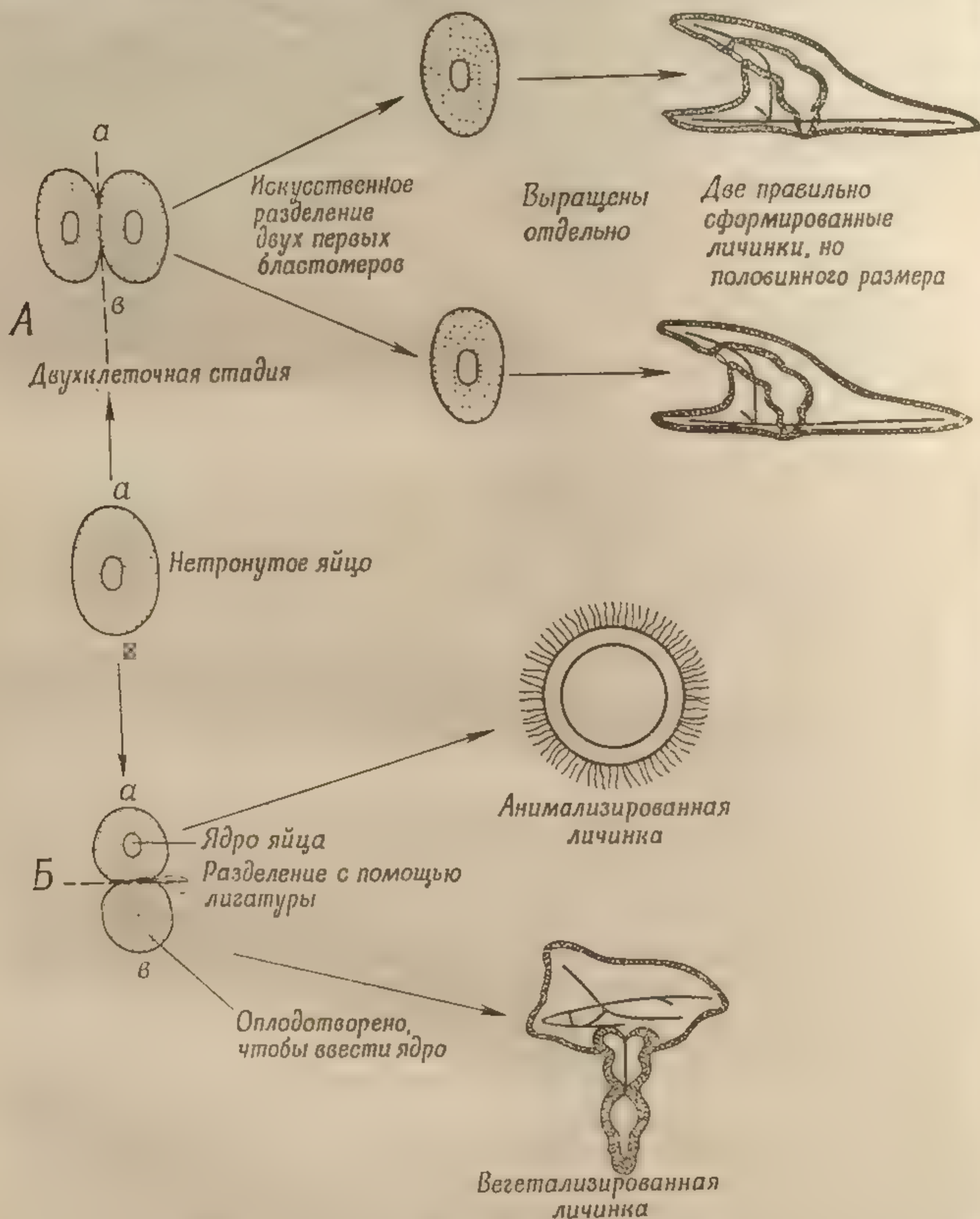
Если у такого иглокожего, как морской еж, разделить первые два бластомера и культивировать их независимо друг от друга,



Фиг. 103. Влияние удаления полярной доли яйца на развитие личинки моллюска *Dentalium* [694].

то каждый из них разовьется в полностью сформированную, но вдвое меньшую по размеру, чем нормальная, личинку. Если рассечь пополам клеточную массу на более поздней стадии дробления в плоскости, проходящей через анимальный и вегетативный полюс (фиг. 104, А), то снова получают две настоящие личинки. Более того, удаление определенных бластомеров существенно не препятствует развитию эмбриона. Потомки других бластомеров могут заменить бластомеры, которые были удалены, хотя в других взаимоотношениях они выполняли бы совершенно иную роль. Таким образом, совершенно очевидно, что бластомеры морских ежей способны к различному типу развития; их судьба не детерминирована необратимо. Это прямо противоположно результатам, полученным на яйцах моллюсков и кольчатых червей и при изучении стадий их дробления. Из этих соображений яйца морского ежа и их бластомеры названы регуляционными, т. е. они обладают способностью восстанавливать нарушения, причиненные разрушением или удалением частей во время развития. Они обнаруживают некоторую степень способности к развитию в разных направлениях, не

свойственной брюхоногим и другим подобным им беспозвоночным, которые начинают развиваться из яйца, дифференцированного на различные зоны с определенным планом развития и, следовательно, имеющего мозаичное строение. На самом деле, различие между



Фиг. 104. Эффект искусственного разделения яйца морского ежа в двух различных направлениях.

регуляционным и мозаичным типами характеризуется при дальнейшем анализе таких форм, как морской еж и лягушка, которые имеют регуляционный тип строения.

Если яйцо морского ежа разделить лигатурой в плоскости, перпендикулярной анимально-вегетативной оси, и оплодотворить поло-

вину, не исключая
гермальных личинок
личинка с реснич
без гермальных
личинка (фиг. 104)
жзогаструла (ве
трофированной
большой, чем об
очевидным, что
мальные произво
ным сбразом мат
честве опытов, и
ные и вегетатив
две силы, дейст
ная. Вместе с
денном яйце обе
не нарушено, с
и органов, разме
если равновеси
вегетативного м
дробления или
более преоблад
даже маленьки
почти нормаль
ного, так и ве
Хотя яйца
регуляционные
ными свойства
обнаруживают
них стадий ра
анимальной и
Изменения
званы воздей
LiCl, вынужд
направлении
развивается
Некоторые а
развитие в
NaSCN и ами
анимализаци
половине яй
было истолк
ная области
как и следо
и стимулят
Трудно у
личий, но т
ются различ

вину, не включающую ядра зиготы, то не образуется двух вполне нормальных личинок. Наоборот, из анимальной половины возникает личинка с ресничками, покрывающими внешнюю поверхность, но без производных эктодермы — так называемая анимализированная личинка (фиг. 104, Б). Из вегетативной половины обычно образуется экзогастрола (вегетализированная личинка) с выпяченной гипертрофированной кишкой или более нормальная личинка с кишкой, большей, чем обычно (фиг. 104, Б). Таким образом, представляется очевидным, что анимальная половина образует в основном эктодермальные производные, в то время как вегетативная половина — главным образом материал энтодермы. Герстадиус [299] в большом количестве опытов, в которых он рекомбинировал различные анимальные и вегетативные области яйца морского ежа, показал, что имеются две силы, действующие в их развитии, — анимальная и вегетативная. Вместе с Руннстремом [741] он утверждает, что в неповрежденном яйце обе силы находятся в равновесии и, пока это равновесие не нарушено, образуется личинка с нормальным набором тканей и органов, размеры которой колеблются в обычных пределах. Однако, если равновесие нарушено посредством удаления анимального или вегетативного материала яйца из клеточной массы на ранней стадии дробления или бластулы, ход развития отклоняется в сторону наиболее преобладающего материала. По-видимому, любая часть яйца, даже маленький участок, содержащий ядро, будет развиваться в почти нормальную личинку при условии присутствия как анимального, так и вегетативного материала [261].

Хотя яйца морского ежа в значительной степени являются регуляционными, совершенно ясно, что они обладают также мозаичными свойствами. Подобно кольчатым червям и брюхоногим, они обнаруживают дифференцировку свойств цитоплазмы с самых ранних стадий развития, что выражается в очевидных различиях между анимальной и вегетативной областями яйца.

Изменения в развитии эмбриона морского ежа могут быть вызваны воздействием химических веществ. Соли лития, такие, как LiCl, вынуждают нормальное яйцо развиваться в вегетативном направлении с образованием экзогастроулы, подобно той, которая развивается из изолированной вегетативной половины яйца [271]. Некоторые аминокислоты, как пролин и аргинин, также вызывают развитие в вегетативном направлении [300]. С другой стороны, NaSCN и аминокислоты серин и лизин приводят к ярко выраженной анимализации того же типа, что и в изолированной анимальной половине яйца [300]. Действие этих солей и органических веществ было истолковано как указание на то, что анимальная и вегетативная области яйца имеют различные типы обмена веществ, которые, как и следовало бы ожидать, различно реагируют на ингибиторы и стимуляторы метаболизма.

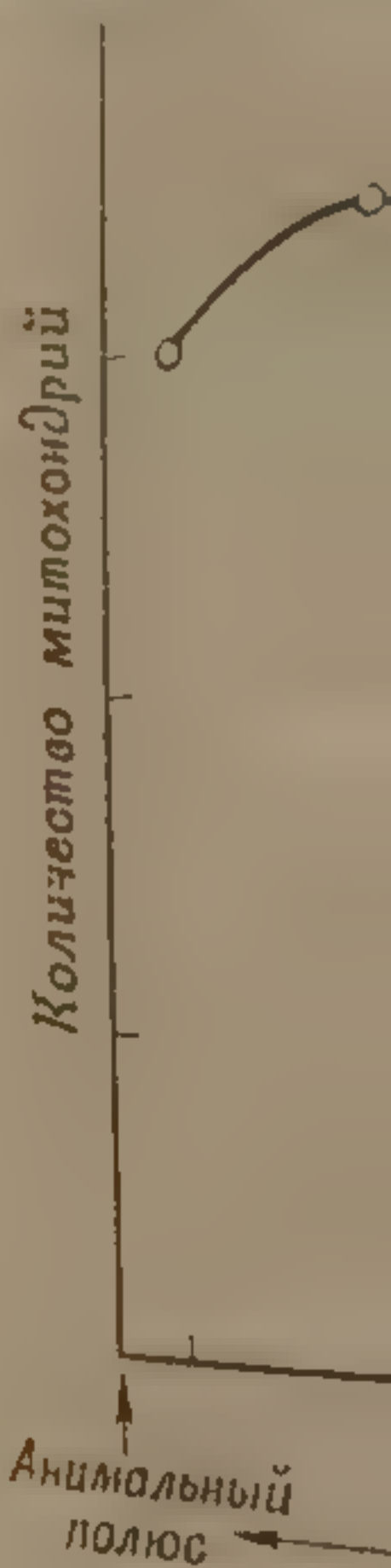
Трудно установить прямое доказательство метаболических различий, но теперь представляется совершенно очевидным, что имеются различия, которые становятся особенно рельефными как раз

перед началом гаструляции. Давно уже Бовери [65] постулировал существование слоистости вдоль анимально-вегетативной оси яйца, причем каждый слой имел различное значение в развитии. Он считал, что эта «слоистость» представляет собой градиент реакций, направленный от одного полюса к противоположному [66]. Некоторые доказательства существования подобного градиента были получены Чайльдом [106], который показал, что на определенных стадиях развития вплоть до поздней бластулы имеется градиент редуцирующей способности. Участок с наибольшей редуцирующей способностью находится на анимальном полюсе, а наименьшей — на вегетативном. Линдаль и Холтер [378] не смогли, однако, определить этого градиента, используя метод декартова поплавка для определения дыхания изолированных анимальной и вегетативной половин яйца. Было обнаружено, что интенсивность дыхания обеих половин одинакова. Это же оказалось справедливым и в отношении активности дипептидазы обеих половин [378]. Несомненно, что для обнаружения каких-либо различий в обмене веществ, которые, возможно, существуют между двумя половинками яйца, необходимы более совершенные методы. Один метод исследования, разработанный Густафсоном и Леником [241], является многообещающим в отношении установления подобных различий в поздней бластуле. Эти исследователи, используя фазово-контрастный микроскоп и прижизненную окраску, показали, что быстрое накопление митохондрий у морского ежа во время развития начинается в конце стадии бластулы в промежуточной фазе, известной как мезенхимная бластула. В этот период развития начинает быстро возрастать число митохондрий и возникает градиент распределения митохондрий, причем в анимальной части яйца находится гораздо большее их число, чем в вегетативной (фиг. 105). Так как митохондрии являются важными центрами окислительных процессов, эти наблюдения уже сами по себе устанавливают количественные различия в обмене веществ между анимальной и вегетативной областью.

Интересно сравнить распределение митохондрий с данными по химическим изменениям, которые имеют место на протяжении ранних стадий развития морского ежа. Некоторые из этих данных сведены в табл. 51. Они совершенно ясно показывают, что имеются небольшие изменения в химической активности там, где она измерялась, вплоть до стадии мезенхимной бластулы, когда возрастает активность, если не количество, многих ферментов. Следует отметить, что с возрастанием активности этих ферментов совпадает усиление дыхания и увеличение числа митохондрий. Некоторые из ферментов, как сукциндегидраза, активность которой увеличивается, являются, как известно, важным элементом митохондрий других животных и, имея в виду отмеченное здесь совпадение, могут также быть элементом митохондрий морского ежа.

Действие иона Li , ранее отнесенного к агентам, вызывающим развитие в вегетативном направлении, представляет также значительный интерес в связи с данными по активности, приведенными

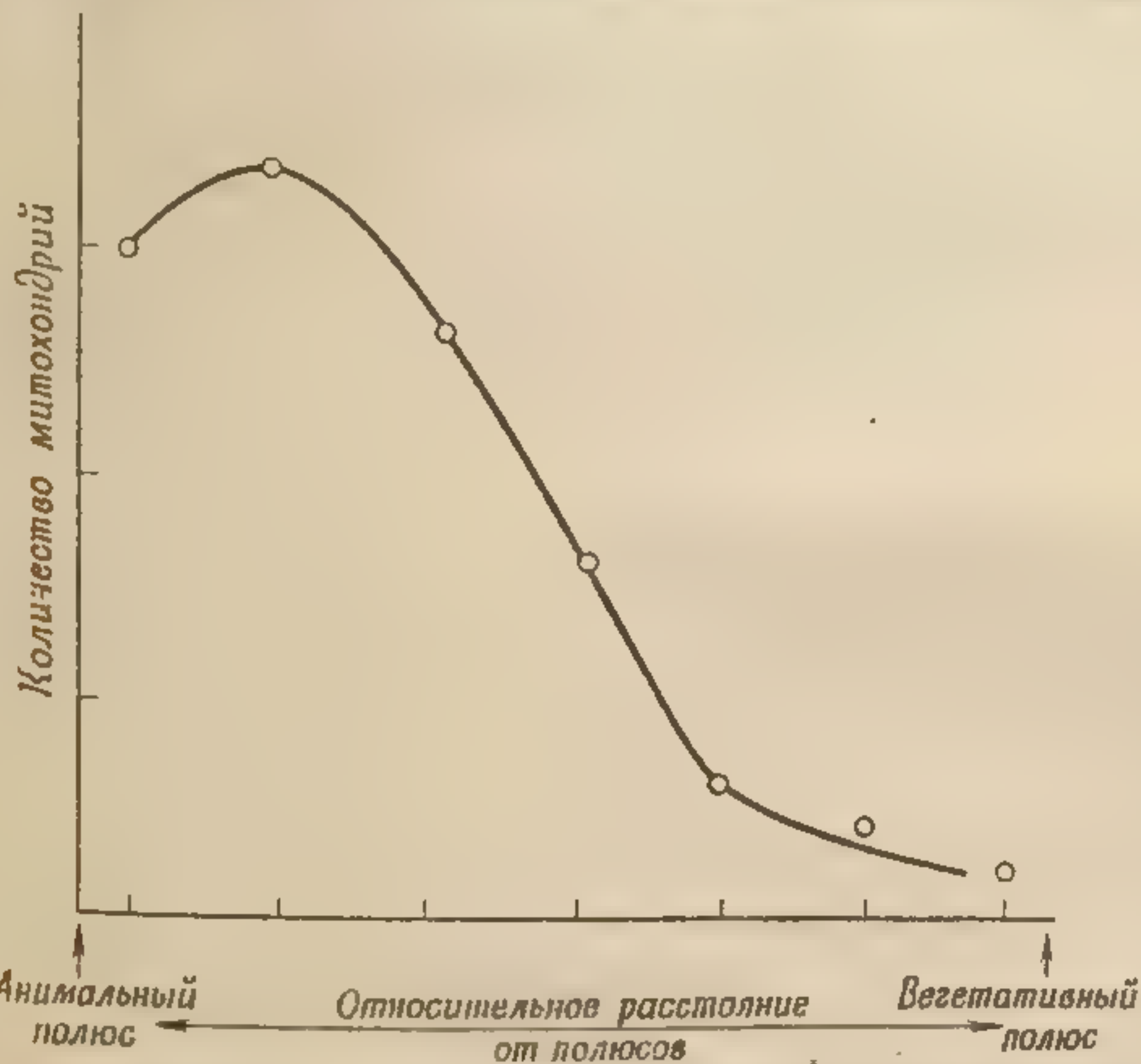
в табл. 51. Во всех случаях во время формирования тормозящий эффект изменения числа митохондрий фермента или деятельности митохондрий, но,



Фиг. 105. Равномерное распределение митохондрий в яйце морского ежа. Данные получены Густафсоном и Леником [241].

Густафсону и Ленику. Эти результаты позволяют выделить ряд факторов, влияющих на вегетативную область, с его конечным влиянием на градиент, на различие в обмене веществ в конце концов к анимальной или вегетативной области. Является ли причиной или следствием? Очевидно, что это не так просто. Если с целью выяснения причин появления тех или иных факторов, то,

в табл. 51. Во всех тех случаях, когда имеется увеличение активности во время формирования мезенхимной бластулы, имеет место явный тормозящий эффект Li^+ . Это справедливо в случае увеличения числа митохондрий, так же как и в случае увеличения активности фермента или дыхания. Литий не только тормозит накопление митохондрий, но, что кажется более существенным, согласно



Фиг. 105. Распределение митохондрий на различных уровнях бластулы морского ежа [241].

Данные получены на бластулах через 18 час. после оплодотворения яйца.

Густафсону и Ленику [241], вызывает снижение градиента плотности митохондрий между анимальной и вегетативной областями. Эти результаты делают вероятным предположение, что одним из главных факторов, вызывающих различие между анимальной и вегетативной областями, является градиент плотности митохондрий с его конечным влиянием на обмен веществ. Любое нарушение этого градиента, например посредством действия Li^+ , уменьшает различие в обмене веществ между двумя частями эмбриона и ведет в конце концов к аномальному развитию.

Является ли существующий митохондриальный градиент причиной или следствием того, что анимальная область образует эктодермальные, а вегетативная область главным образом энтодермальные производные, на основании имеющихся данных решить невозможно. Очевидно, между ними имеется определенное соотношение. Если с целью обсуждения принять наблюдаемый градиент как причину, то сразу возникает логичный вопрос относительно причин появления градиента. Не имеется экспериментальных данных, чтобы ясно ответить на этот вопрос. Густафсон и Леник [241],

Таблица 51

Изменения химического состава и активности ферментов на ранних стадиях развития эмбриона морского ежа [58, 240, 241, 325]

	Сущность изменения, если оно имеется	Стадия, на которой имеет место изменение	Влияние Li^+
--	--------------------------------------	--	----------------

Азотистые компоненты

Общий азот	Нет изменений	—	—
Аммиак	3-кратное возрастание	Мезенхимная бластула	Тормозит увеличение
Аминокислоты	Изменение некоторых аминокислот	То же	Задерживает изменения

Активность и концентрация ферментов

Апираза	Двукратное возрастание	Мезенхимная бластула	Тормозит возрастание активности
Сукциндегидраза	Более чем 5-кратное возрастание	То же	То же
Дегидраза яблочной кислоты	3-кратное возрастание	» »	—
Глутаминаза	10-кратное возрастание	Гастрюляция	Тормозит возрастание активности
Катепсин II	Отсутствия или слабых до выраженных изменений	Мезенхимная бластула	То же
Щелочная фосфатаза	Возрастание	Мезенхимная бластула	Слабая задержка
Пирофосфатаза ...	Нет изменений	—	Не влияет на активность
Фосфомоноэстераза	» »	—	То же
Альдолаза	» »	—	—
Аденозиндезаминаза	» »	—	Не влияет на активность
Фенилсульфатаза	» »	—	—
Цитохром	Возрастание с последующим падением	Накопление после оплодотворения и падение на стадии бластулы	—
Каталаза	Уменьшение	Мезенхимная бластула	Стимулирует уменьшение

Дыхание и ферментативные комплексы

Интенсивность дыхания	5-кратное увеличение	Оплодотворение и затем снова на стадии мезенхимной бластулы	Приостанавливает усиление
Число митохондрий	Четкое увеличение	Мезенхимная бластула	Задерживает накопление

...равен на ...
морского ежа имеет
ста активности, ...
полюсе, а другой —
градиенты могут ...
Эти исследователи ...
зальной стороны пр
тезе белков, в то вр
главным образом в
кации сульфатов. О
собой типы обмена
усиление другого. С
при воздействии Li^+
обмена веществ и и

Вопрос о том, ка
имеет большое знач
об этом. Возможно,
различного удельно
рое создает основу
ющей впоследствии
диффузии может им
тезу, основанную от
возможно, имеет уч
Это не является не
существуют в корти
чия в проницаемост
вых и экскретируем
внутри яйца, кото
венное влияние на

Какой бы ни б
организации цитоп
зация существует
под их контролем
первоначально не
смаивать как воз
генотипа во время
Описанную вы
первым значитель
ренцировке клет
вательно, играет
лений фенотипа.

Хим
морфологи
Следует напом
в ткани зародыш
ферментов в хол

опираясь на предположение Руннстрема [741] о том, что в яйцах морского ежа имеется два противоположно направленных градиента активности, один с наивысшей активностью на анимальном полюсе, а другой — на вегетативном, предположили далее, что эти градиенты могут быть причиной митохондриального градиента. Эти исследователи постулировали, что основная активность анимальной стороны проявляется в образовании митохондрий и синтезе белков, в то время как вегетативная область яйца участвует главным образом в распаде белков, синтезе пигмента и в этерификации сульфатов. Обе эти части содержат конкурирующие между собой типы обмена веществ. Ослабление одного из них вызывает усиление другого. Следовательно, уменьшение числа митохондрий при воздействии Li^+ и т. п. вызывает усиление вегетативного типа обмена веществ и избыточное образование энтодермы.

Вопрос о том, как возникают эти первичные различия в яйце, имеет большое значение, но едва ли имеются какие-либо данные об этом. Возможно, сила земного притяжения, действуя на частицы различного удельного веса, могла бы вызвать напластование, которое создает основу для более резкой дифференциации, наступающей впоследствии. Костелло [118] предположил, что действие диффузии может иметь большое значение, и развил сложную гипотезу, основанную отчасти на предположении, что поверхность яйца, возможно, имеет участки с различными свойствами проницаемости. Это не является неправдоподобным, учитывая различия, которые существуют в кортикальном слое некоторых яиц. Подобные различия в проницаемости, касающиеся поглощения и выхода ряда пищевых и экскретируемых веществ создают серию градиентов диффузии внутри яйца, которые, согласно ожиданиям, оказывают существенное влияние на ход обмена веществ в разных участках яйца.

Какой бы ни была непосредственная причина первоначальной организации цитоплазмы яйца, следует признать, что эта организация существует в присутствии генов и, несомненно, находится под их контролем. Цитоплазму зиготы, несмотря на то, что она первоначально не является продуктом генома зиготы, следует рассматривать как возникшую в основном под контролем материнского генотипа во время образования яйца в яичнике.

Описанную выше организацию цитоплазмы яйца следует считать первым значительным шагом по направлению к более поздней дифференцировке клеток, возникающих из нее, и эта организация, следовательно, играет важную роль в механизме развития и в определении фенотипа.

Химические явления, сопровождающие морфологические изменения или предшествующие им

Следует напомнить, что определения ферментативной активности в ткани зародыша цыпленка выявили четкие изменения некоторых ферментов в ходе развития (стр. 349). Более того, на основании

данных табл. 51, следует отметить, что активность и, по-видимому, концентрация ряда ферментов возрастают к моменту, непосредственно предшествующему началу гаструляции в яйцах морского ежа. Таких изменений метаболической активности следовало ожидать, если принять, что морфологической дифференцировке должна сопутствовать дифференцировка химическая. В связи с этим, однако, некоторые известные факты, касающиеся химических изменений, имеют значение для истолкования некоторых дальнейших направлений в теории развития.

Значительная работа, сделанная Браше и другими исследователями и суммированная Браше [67], посвящена химическим явлениям на ранних стадиях развития амфибий. Она может служить для иллюстрации двух важных положений: 1) химическое изменение, имеющее место в ходе развития, может произойти совсем внезапно и сопутствовать очень важным фазам развития, таким, как гаструляция, или даже предшествовать им; 2) химические изменения вовсе необязательно должны распространяться на весь эмбрион, но могут быть строго локальными, приводя к еще большей неоднородности, чем существовавшая первоначально в яйце. У лягушки, так же как и у морского ежа (табл. 51), не имеется ясно выраженного изменения в метаболической активности во время дробления и стадии бластулы, наступающих непосредственно вслед за оплодотворением. Это сказывается в относительном постоянстве поглощения кислорода, а также в относительном постоянстве дыхательного коэффициента, равного приблизительно 0,60—0,65. Во время этой ранней фазы развития эмбрион способен дробиться в анаэробных условиях и KCN не оказывает на него влияния в концентрациях, безусловно ядовитых для эмбриона на последующих стадиях развития. С началом гаструляции, однако, происходит немедленное изменение. Дыхательный коэффициент доходит до 0,95—1,0, развивается чувствительность к KCN, а отсутствие свободного кислорода приводит к отчетливому торможению дальнейшего развития. Бластула, например, не переходит к гаструляции в отсутствие кислорода. Это изменение в дыхании сопровождается изменением в потреблении углеводов. Перед гаструляцией запас углеводов, отложенный в виде гликогена, остается довольно постоянным, но с началом гаструляции гликоген начинает исчезать.

На основании этих данных, а также других данных, подтверждающих эту точку зрения, которые не приведены здесь, Браше [67] пришел к заключению, что во время дробления и образования бластулы имеет место неполное окисление и эмбрион черпает энергию из запасов, отложенных в виде АТФ или фосфокреатина, присутствие которых в эмбрионе было показано. Система концевой оксидазы в виде флавопротеина может функционировать в присутствии кислорода, но нечувствительность к цианиду должна указывать на то, что цитохромная система не функционирует. С наступлением гаструляции коренным образом меняется механизм дыхания. Начинается гликолиз, появляется, по-видимому, цито-

хромная система, и во
тчение.

Имеет несомненное
ежа (см. табл. 51) и у л
вещств и особенно д
происходит не постепе
пает в течение неско
дыхания встречается
окукливания.

7%

Фиг. 100
Цифры по
гликогена

Определенная л
продолжает существ
Уже приводился пр
ежа. На лягушках
сульфгидрильные
Имеется градиент
тативному, с наивыс
В гаструле наивыс
губе бластопора, и
ная фракция этого
в переднем ее кон
кислота и рибону
содержащим суль
гликогена на стад
центрируется в ан
С началом гастри
губы бластопора
областей гораздо
требления кисл

хромная система, и вообще дыхание приобретает свое нормальное течение.

Имеет несомненное значение то, что в обоих случаях, у морского ежа (см. табл. 51) и у лягушки, имеет место четкое изменение обмена веществ и особенно дыхания во время гаструляции. Это изменение происходит не постепенно, но очень быстро; у лягушки оно наступает в течение нескольких часов. Подобное же резкое изменение дыхания встречается и в развитии насекомых как раз после начала окукливания.

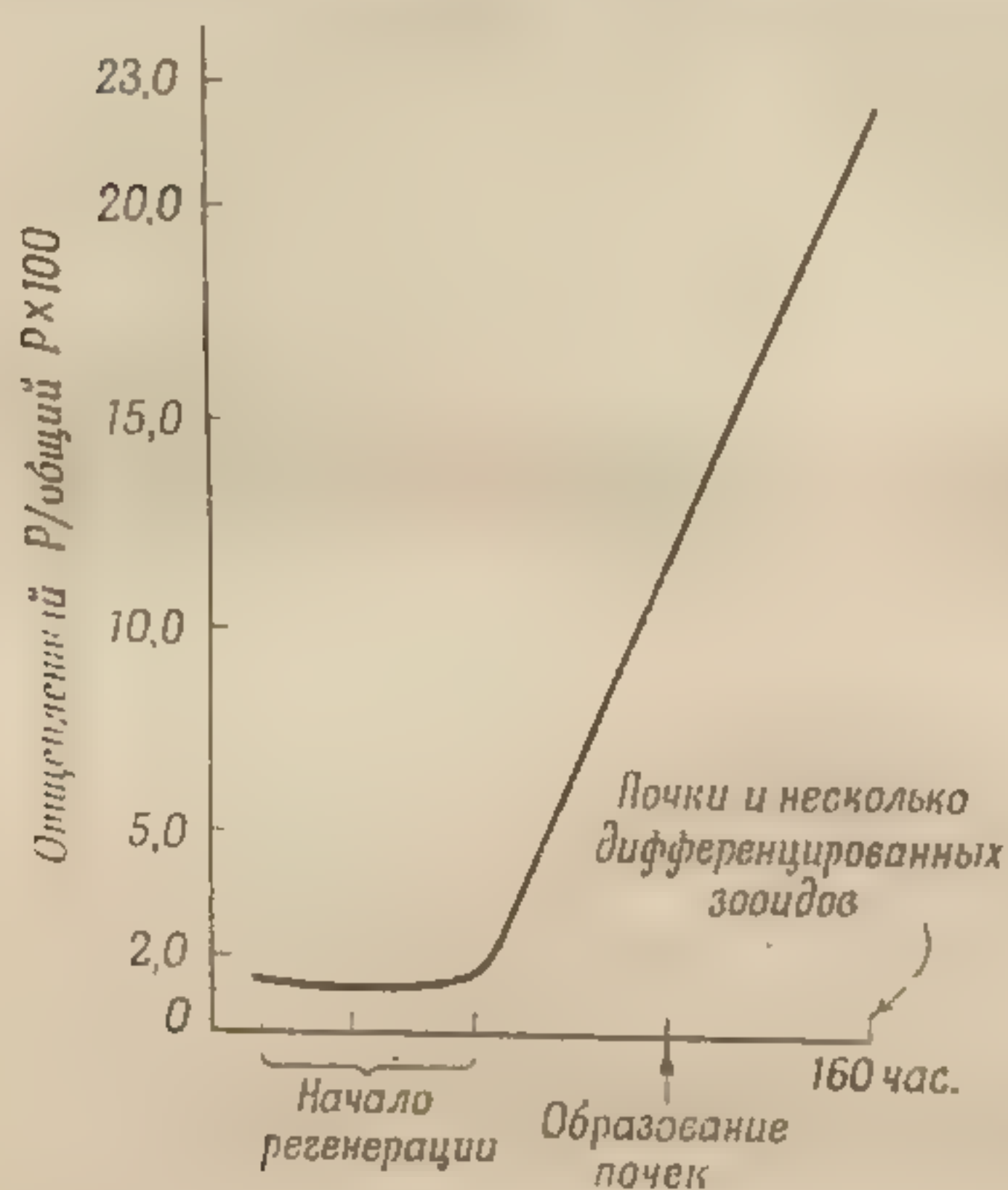


Ф и г. 106. Схема ранней гаструлы лягушки [268].
Цифры показывают примерное уменьшение содержания гликогена в различных частях гаструлы от начала гаструляции до ее окончания.

Определенная локализация метаболических процессов в яйце продолжает существовать и, несомненно, усиливается в эмбрионе. Уже приводился пример с распределением митохондрий у морского ежа. На лягушках Браше [67, 70] показал, что белки, содержащие сульфгидрильные группы, распределены в яйце неравномерно. Имеется градиент распределения от анимального полюса к вегетативному, с наивысшей концентрацией на анимальном полюсе. В гаструле наивысшая концентрация сосредоточена в дорзальной губе blastopore, и когда развитие достигает стадии нейрулы, основная фракция этого белка находится в нервной пластинке, особенно в переднем ее конце. Согласно Браше [67, 70], рибонуклеиновая кислота и рибонуклеопротеиды распределены аналогично белкам, содержащим сульфгидрильные группы. Наибольшее количество гликогена на стадии blastula и ранней гаструлы лягушки концентрируется в анимальной (или дорзальной) части эмбриона [267]. С началом гаструляции гликоген исчезает из области дорзальной губы blastopore наиболее быстро, в то время как из остальных областей гораздо более медленно (фиг. 106) [268]. Увеличение потребления кислорода в дорзальной области эмбриона, и именно в

районе дорзальной губы, во время гаструляции связано с наступлением гликолиза.

В литературе по биохимической эмбриологии можно найти множество примеров, когда локализация веществ специфического типа характеризует области различий в метаболизме. Обычно с этими локальными скоплениями веществ связаны градиенты, так



Ф и г. 107. Увеличение активности аденозин трифосфатазы (апиразы) у асцидии *Symplegma* [314].

Symplegma — колониальная асцидия, образующая зооиды из почек на столоне или центральном стволе колонии. Когда столон начинает регенерировать зооид, активность аденозинтрифосфатазы возрастает во много раз.

градиенты появляются один вслед за другим, пока эмбрион не оказывается состоящим из множества различных центров активности. Активность некоторых центров суммируется, другие конкурируют из-за общего субстрата, а третьи подавляют друг друга посредством вырабатываемых в них продуктов.

Очень важные примеры химических изменений, происходящих в процессе развития, можно найти во многих экспериментах по регенерации. Регенерацию, как неоднократно подчеркивал Чайльд [106], следует рассматривать как один из аспектов развития. Заслуживает внимания, что связанные с регенерацией химические изменения представляют собой повторение тех самых изменений, которые происходили с утраченными и подлежащими замене частями в эмбриогенезе.

Примеры химических сдвигов, сопровождающих регенерацию или добавочный рост, связанный с дифференцировкой, можно найти

как для большинства веществ не характерно распределение по принципу «все или ничего». Скорее, имеются центры концентрации данного вещества с градиентами постепенного уменьшения этой концентрации по мере удаления от центра. Градиенты описаны в развивающихся эмбрионах почти всех животных. Их изучали с различных точек зрения — одни просто с описательно-химической, другие с физиологической. Чайльд [106] проанализировал физиологию развития многих организмов с позиции своей теории градиентов, которая, по существу, просто констатирует, что в развивающемся эмбрионе имеются различные центры активности, расположенные в разных его участках. Вначале имеется один градиент — анимально-вегетативный, затем появляется другой и т. д.;

Влияние

На сновании имеющихся данных дифференцировка не означает, что в результате расщепления факторы, способствующие почку для дифференцированных клеток первичную дифференциацию свойств при дифференцировке. Данными вокруг каждой соседних клеток легкое развитие шло. Решающие доказательства были получены в эмбрионе амфибий и в концентрации была достигнута. Теперь это амфибиях. Теперь это животные. Оно, вернее, обнаруживают строение типа. Наилучшие примеры у амфибий можно взять под микроскопом развития, обладающих как репродуктивной, так и аналогично яйцам.

среди наблюдений над некоторыми кишечнополостными и асцидиями. У кишечнополостного *Obelia geniculata* в эндодерме активно пролиферирующих частей колонии наблюдается высокая концентрация свободных сульфгидрильных групп [104]. Эндодерма остальных частей колонии обладает лишь диффузной сульфгидрильной активностью. Йегер и Барт [314] показали, что у асцидий *Sympylegma*, колониальной формой которых являются зооиды (взрослые формы), отпочковывающиеся столонов, активность апиразы (аденозинтрифосфатазы) столонов очень низкая, тогда как столоны или кусочки регенерирующих столонов, готовые к образованию зооидов, отличаются очень высокой активностью этого фермента. Следовательно, развитие из относительно недифференцированной массы клеток, образующих стolon, в дифференцированный стolon сопровождается многократным увеличением активности апиразы (фиг. 107).

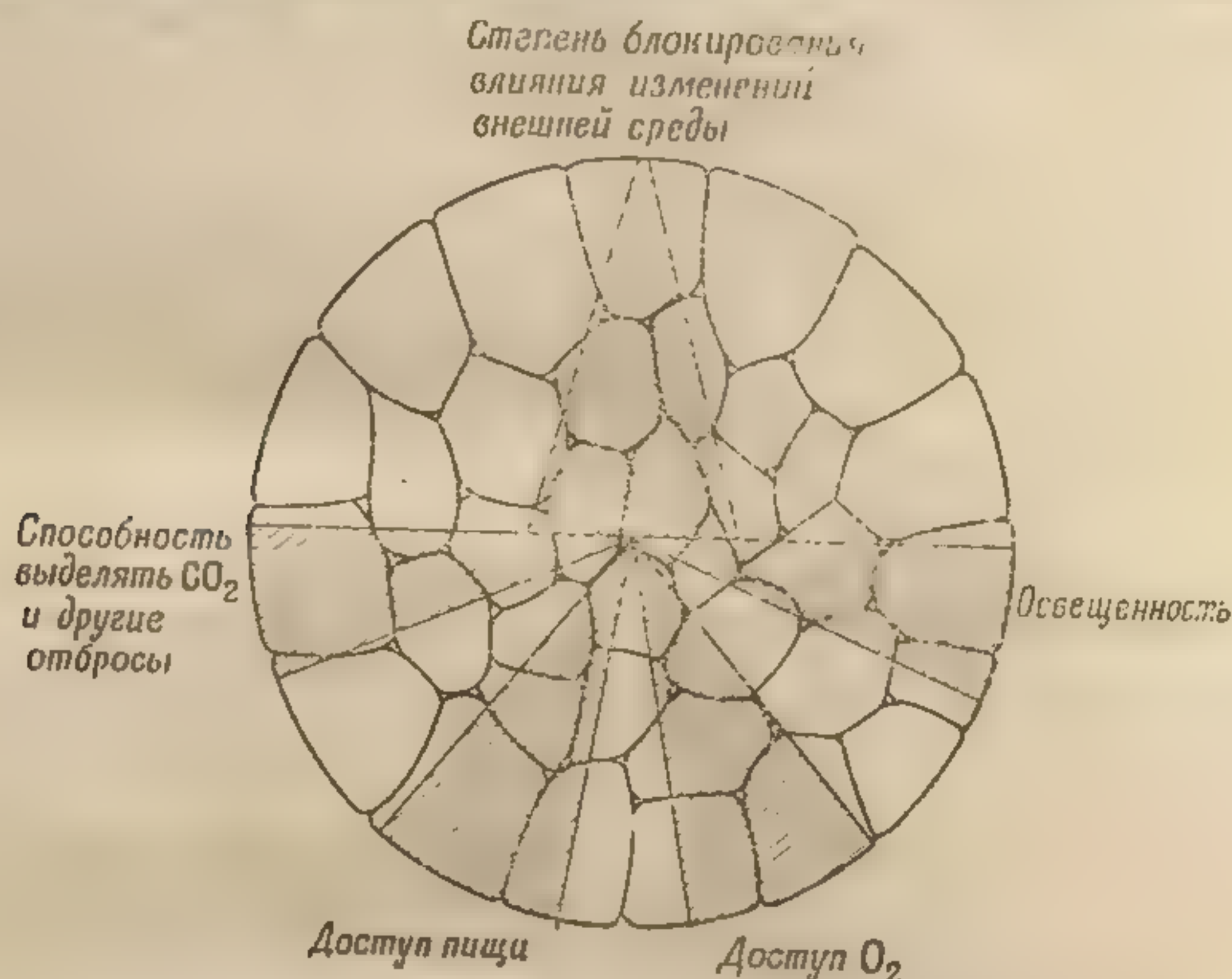
Влияние одной части на другую

На основании имеющихся данных, следует предполагать, что причина дифференцировки заключается в цитоплазме яйца, однако это не означает, что вся дифференцировка и развитие являются лишь результатом рассортировки или распределения цитоплазмы. Внутренние факторы, создающие различия в дробящихся клетках, готовят почву для следующей фазы развития, при которой дифференцированные клетки начинают действовать друг на друга. На первичную дифференцировку, возникающую в результате разделения свойств при дроблении, должна накладываться вторая фаза дифференцировки, определяемая новыми условиями среды, созданными вокруг каждой клетки или клеточного слоя вследствие отличий соседних клеток и слоев. Степень различия сред вокруг отдельных клеток легко себе представить, рассматривая последовательное развитие шара, состоящего из клеток (фиг. 108).

Решающие доказательства действия одного типа клеток на другие были получены Шпеманом в результате экспериментов на эмбрионе амфибий и выразились в концепции «организатора». Затем эта концепция была проверена на многих других животных, причем были достигнуты результаты, аналогичные полученным на амфибиях. Теперь это явление получило всеобщее признание, и ему придают крайне важное значение в развитии всех позвоночных животных. Оно, вероятно, имеет также место и в развитии большинства беспозвоночных животных, за исключением тех, которые обнаруживают строго детерминированное развитие из яиц мозаичного типа.

Наилучшие примеры влияния одних клеток на другие обнаружены у амфибий с регуляционным типом развития, яйца которых можно взять под непрерывный контроль с самого начала эмбрионального развития, сейчас же после оплодотворения. Эти яйца обладают как регуляционными, так и мозаичными свойствами; аналогично яйцам морских ежей. Непосредственно после оплодо-

творения в яйце появляется серповидная серая область в месте около слияния анимальной и желточной областей (фиг. 109). Она сдвинута обычно к кортикальному слою яйца и названа из-за своего внешнего вида серым серпом. Этот участок играет очень важную роль в развивающемся яйце, на что указывает его локализация в области будущей дорзальной губы бластопора, а также невозможность нормального развития яйца в его отсутствие. При рассечении яйца



Фиг. 108. Схема, показывающая некоторые различия во внутренней среде внутри клеточного шара.

Заштрихованные треугольные зоны показывают, что от поверхности к центру клеточной массы интенсивность одних факторов увеличивается, а других — уменьшается.

лягушки в плоскости, проходящей через анимальный и вегетативный полюсы, получают, как и у морского ежа, две полноценные личинки. Однако при этом плоскость сечения должна также рассечь пополам серый серп или по меньшей мере разделить его таким образом, чтобы материал его попал в обе половинки яйца. Если весь серый серп останется в одной половинке, то разовьется только она, а половина без серого серпа проделает несколько дроблений, после чего развитие прекратится. Это свидетельствует о том, что яйцо лягушки обладает мозаичными свойствами. Вместе с тем оно является в значительной степени регуляционным, что будет показано ниже.

Для яйца лягушки можно составить такую же «карту судьбы различных участков» (фиг. 110), как и для моллюсков и кольчатых червей (см. стр. 354). Однако судьба того или иного участка яйца лягушки является *презумптивной*, а не *детерминированной*. Поясним это на примере. Известно, что участок очень ранней гастролы принимает участие в формировании глаза взрослого животного. Наличие предопределения в судьбе этого участка можно показать

путем маркировки и прослеживания развития до места, однако, кусочек экто-мему эмбриону (фиг. зависит от того, ку-

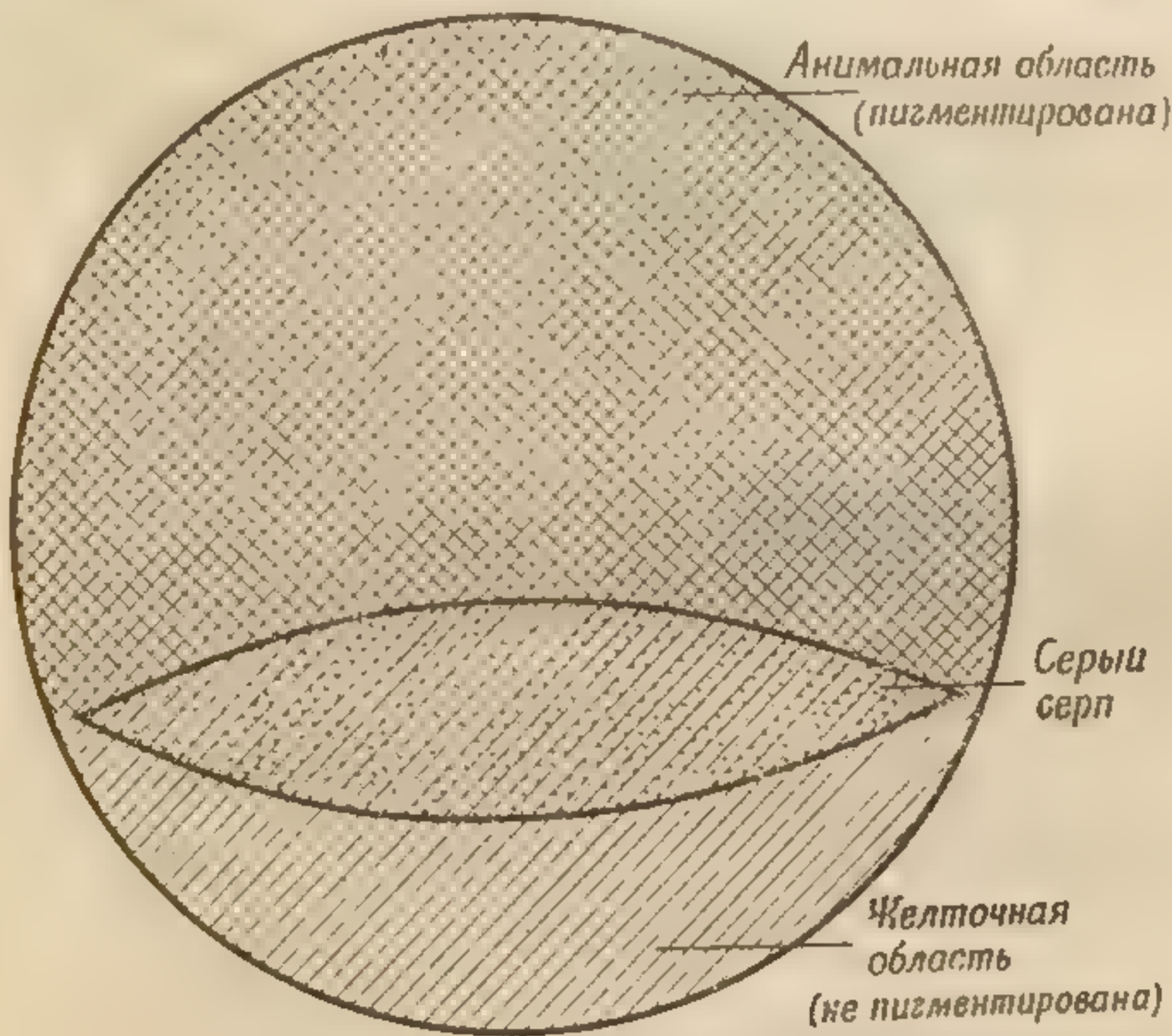


Фиг. 110. Указано р

головы хозяина, о- ный материал, ха- же в другие части и ткани, характер- Теперь ясно, поче- зумптивным глазо- жении или при- другими органам среду, например- существование в- презумптивной г- различными спосо- тип развития.

Если гастролу- начинается обра- материал, бывш- вится теперь дет- участка к более- глаза независи-

путем маркировки его недиффундирующим инертным веществом и прослеживания на протяжении всего процесса нормального развития до места его новой локализации в районе глаза. Если, однако, кусочек эктодермы из этого участка пересадить более взрослому эмбриону (фиг. 111), то дальнейший ход его развития будет зависеть от того, куда его пересадить. Будучи пересажен в область



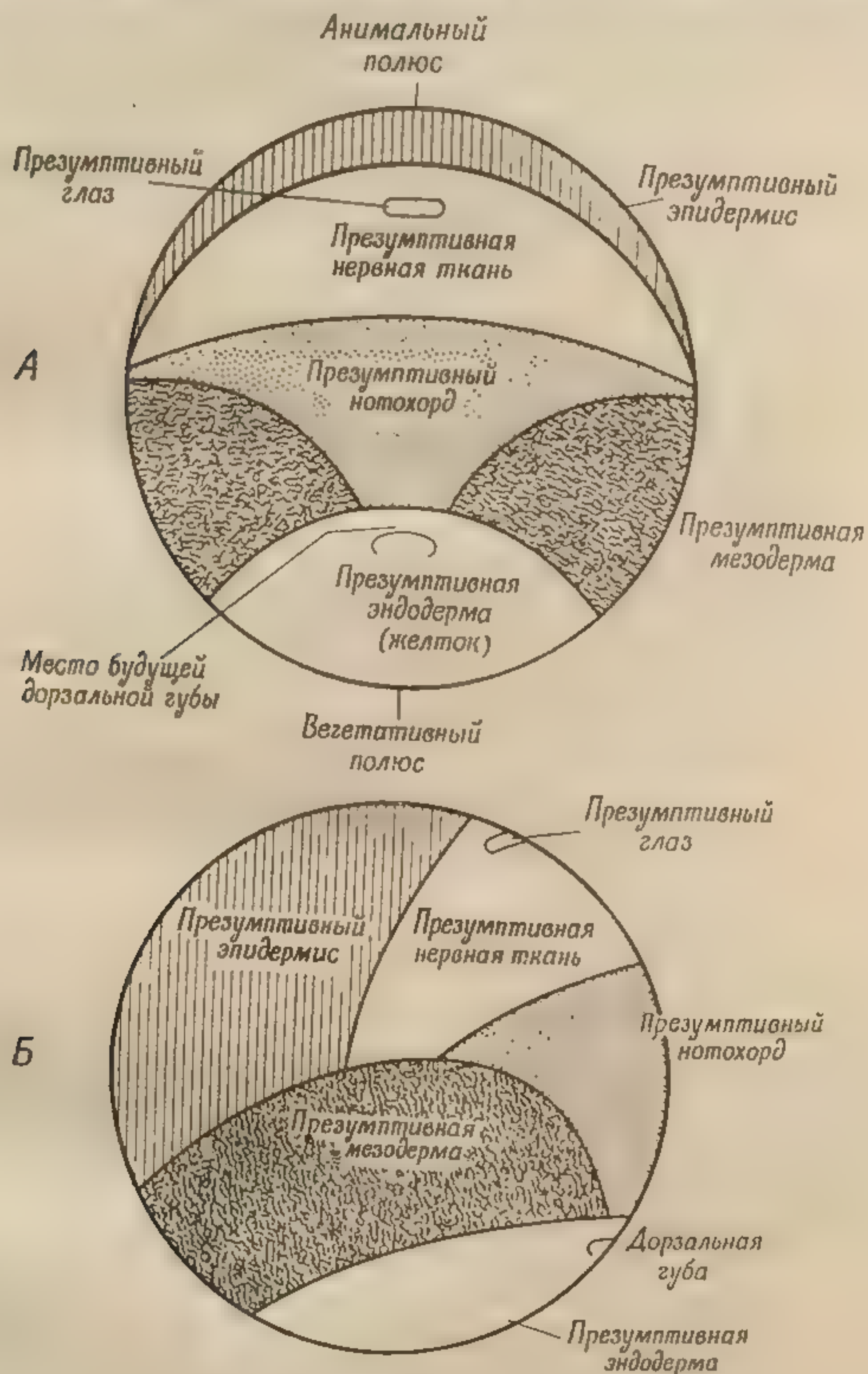
Фиг. 109. Внешний вид яйца лягушки.

Указано расположение серого серпа, развивающегося вскоре после оплодотворения.

головы хозяина, он может образовать глаз, мозг или мезодермальный материал, характерный для области головы; при пересадке же в другие части зародыша он будет формировать другие органы и ткани, характерные для этих участков при нормальном развитии. Теперь ясно, почему этот участок в ранней гастрале назван *презюмтивным глазом*. Он разовьется в глаз только в подходящем окружении или при определенном пространственном соотношении с другими органами и тканями. Будучи помещен в «нейтральную» среду, например в физиологический раствор, он будет продолжать существование в виде недифференцированной эктодермы. В качестве презюмтивной глазной ткани он может вести себя несколькими различными способами и, следовательно, проявляет регуляционный тип развития.

Если гастрала продолжает развиваться до стадии нейрулы, когда начинается образование нервной струны, то, как было обнаружено, материал, бывший ранее только презюмтивным глазом, становится теперь детерминированным глазом. Пересадка того же самого участка к более взрослому эмбриону приводит только к образованию глаза независимо от места введения (фиг. 111).

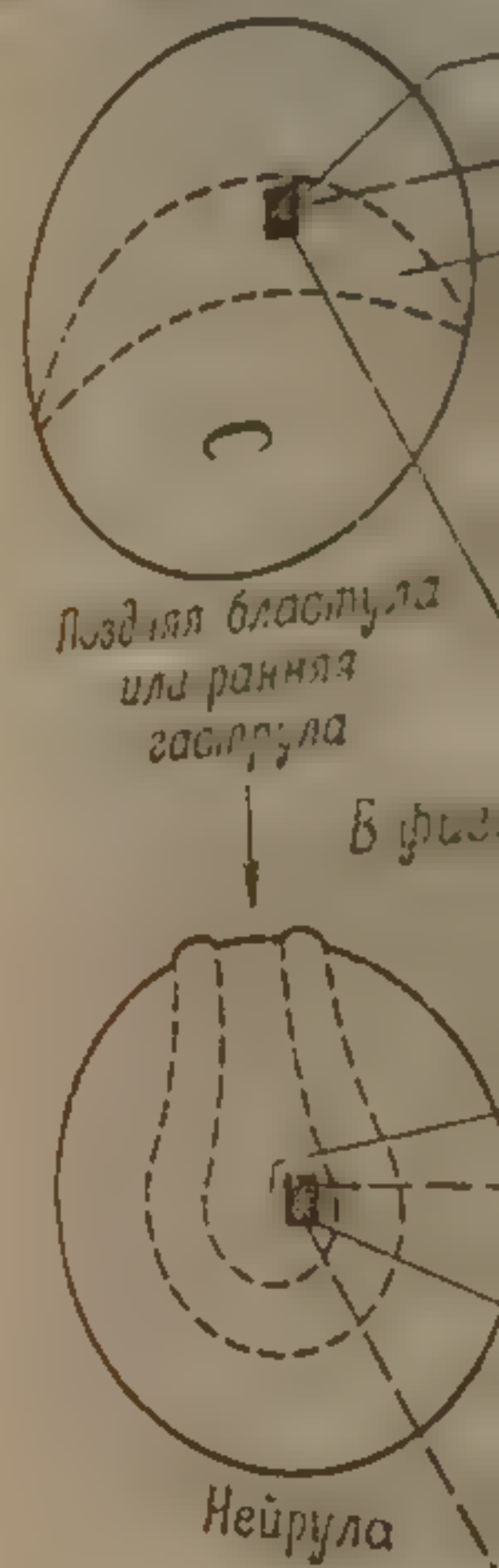
На основании этих экспериментальных наблюдений можно сделать два очень важных заключения, подтвержденных как для других позвоночных, так и для различных презумптивных участков раннего эмбриона лягушки: 1) судьба частей раннего эмбриона (например,



Фиг. 110. Два вида поздней бластулы лягушки. Указаны презумптивные значения различных участков поверхности.

гастроулы лягушки) в значительной степени определена их положением относительно других частей. Другими словами, они потенциально способны развиваться во многих направлениях; 2) период тотипотентности, или гибкости, не беспределен. Во время развития наступает период (стадия нейрулы — для глаза лягушки), когда клетки вследствие длительной связи с окружающими клетками

специфического типа ста-
ранными, т. е. сказыва-
какого-либо одного органа.
Очевидно, что какой-то
обладает первоначальной
рый, так сказать, позво-

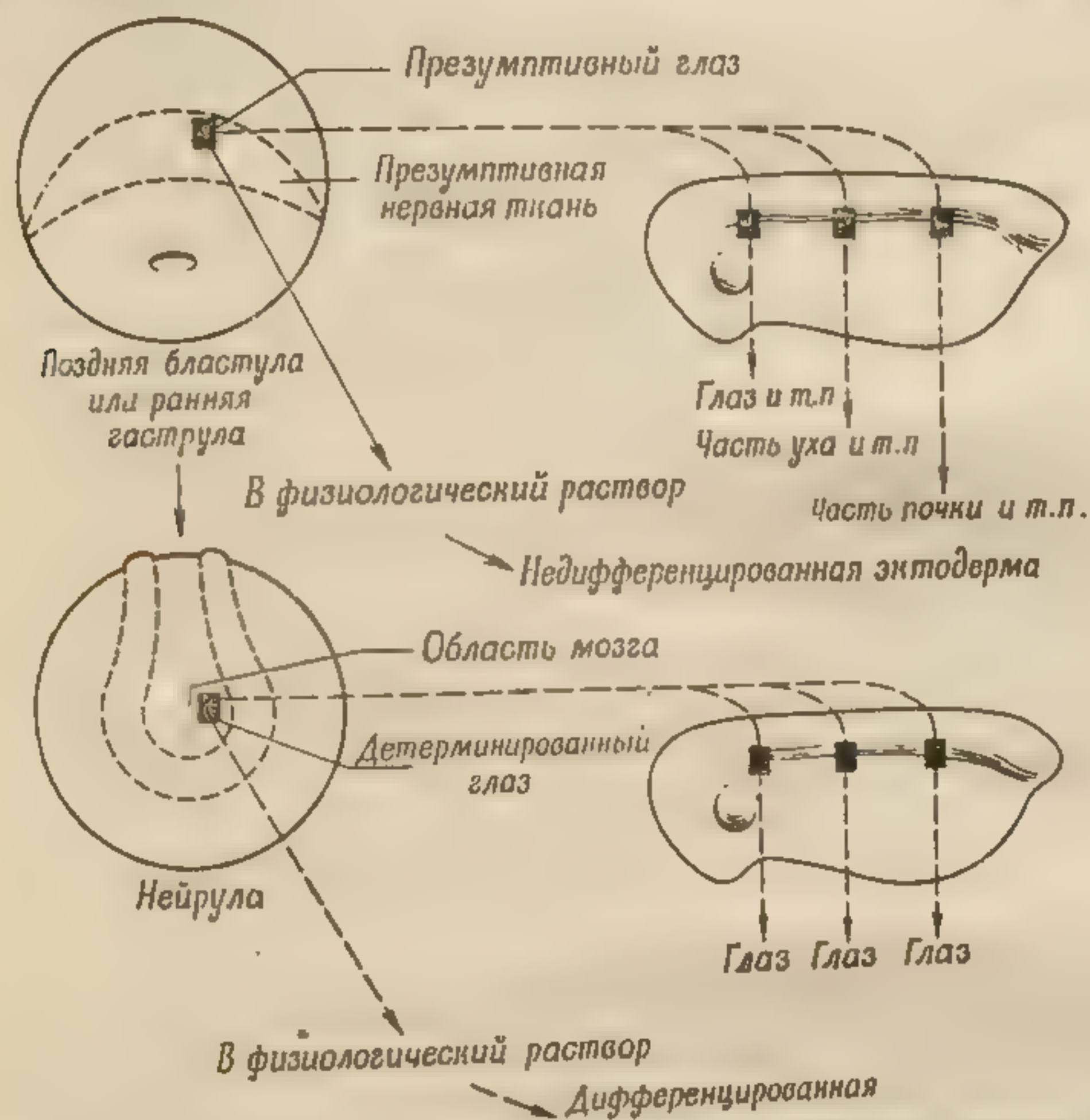


Фиг. 111. Стадиях

ожидать, что эта обла-
жающие участки, зас-
ном направлении, и, с
как центр организаци-
организации были об-
ненно, существуют у
и млекопитающих. В
служит серый серп,
определяет место до-
гастроуляция, эта и
презумптивный ното-
или впиваются, по-
ная ткань нервной
составляет в это врем-
перемещающаяся с на-
эти клетки образ-

специфического типа становятся фиксированными или детерминированными, т. е. оказываются способными к образованию только какого-либо одного органа.

Очевидно, что какой-то участок яйца или раннего эмбриона обладает первоначально определенным типом детерминации, который, так сказать, позволяет ему самодифференцироваться. Можно

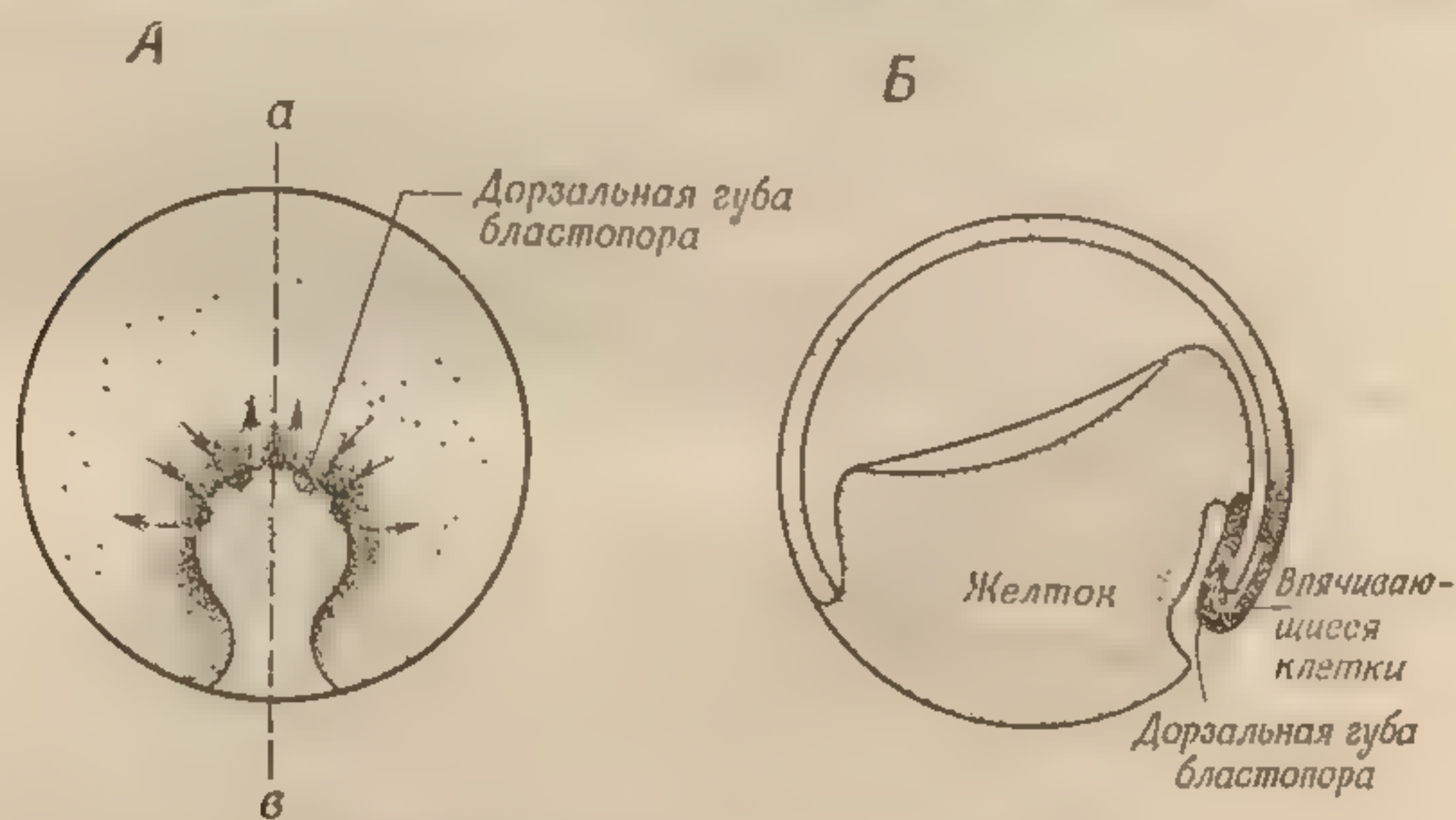


Фиг. 111. Эксперименты по пересадкам на ранних стадиях развития эмбриона лягушки [727].

ожидать, что эта область в свою очередь оказывает влияние на окружающие участки, заставляя их дифференцироваться в определенном направлении, и, следовательно, в известном смысле действует как центр организации, или *организатор* [578]. Подобные центры организации были обнаружены у лягушки и цыпленка и, несомненно, существуют у других животных, в том числе у насекомых и млекопитающих. Вначале считали, что у лягушки организатором служит серый серп, который впоследствии, во время гаструляции, определяет место дорзальной губы бластопора. Когда наступает гаструляция, эта и вышележащие области эктодермы, включающие презумптивный нотохорд и мезодерму (фиг. 110), заворачиваются, или втягиваются, под эктодерму (фиг. 112), тогда как презумптивная нервная ткань нервной системы остается снаружи. Дорзальная губа составляет в это время только острый угол, который огибают клетки, перемещаясь с наружной поверхности во внутрь. Внутри гаструлы эти клетки образуют нотохорд и мезодерму сомитов; в совокупности

вся внедрившаяся клеточная масса называется *хордомезодермой*. Эктодерма, находящаяся непосредственно над материалом нотохорда, развивается в нервную трубку и головной мозг, располагаясь параллельно нотохорду. Участки эктодермы, лежащие над мезодермой сомитов по обеим сторонам нотохорда, дают эпидермис и органы эпидермального происхождения.

Этот нормальный ход развития лягушки регулируется вначале появлением дорзальной губы бластопора в области серого серпа. Если удалить этот организующий центр, то гаструляция протекать



ф и г. 112. Сема гаструляции лягушки [727].

не сможет. Более того, если удалить кусочек презумптивной хордомезодермы из области центра организации ранней гаструлы (прежде чем началось впячивание) и пересадить его в другую часть того же самого или даже другого эмбриона, то этот кусочек оказывает воздействие на окружающие клетки и из них развивается нервная трубка и различные другие структуры, связанные с областью нервной трубки. Сам трансплантат превращается в нотохорд и мезодермальные сомиты. В этом смысле он самодифференцируется, так как, если бы его оставили на месте и дали бы ему возможность проделать впячивание, он стал бы развиваться в том же направлении. Прилегающие к трансплантату эктодермальные клетки развиваются в медулярную пластинку и нервную трубку независимо от того, какой могла быть их первоначальная презумпция в целом эмбрионе. На основании такого рода экспериментов было сделано заключение, что хордомезодерма, первоначально возникающая из организующего центра, способна направлять другие клетки по определенному курсу дифференцировки. Природа этой индукции непонятна, но ее существование указывает, что одна часть развивающегося животного действительно способна оказывать влияние на другие.

Процесс индукции, несомненно, представляет собой химический процесс. При помощи многих различных химических соединений можно вызвать внешне сходные реакции эктодермы, но у нас нет

показательств того, что хордомезодермой. Бл...
...муляция одного с...
...химического соедине...
...как реагирующие, так...
...влияние на метаболи...
...ход развития тех или...
...Известно, кроме того,...
...характера, заключающ...
...индуктора и эктодерм...
...контакта индуцирую...
...продолжает развитие...
В этом смысле хордо...
приводя в действие о...
события начались, вы...
можно, — другими сло...
то степени уменьшают...
...есс необратимый, од...
...подчеркивать слово «не...
...деказывающие невозм...
Выше упоминалось...
...изатор, интенсивност...
Однако значение этой...
...рующей функции орга...
...что интенсивность д...
...на которую он действу...
...частей, взятых в отде...
Браше [67] показат...
...лении нуклеиновых к...
...ные группы, наступаю...
...и в лежащей над ней з...
...ти изменения указыва...
...в микросомах хордоме...
...роль ее синтеза в про...
...в гранулах хордомезо...
...и крайне тесный конта...
...лежащими выше, наив...
...переходить из одного...
...участвовать в индукци...
...между хордомезодерм...
...нейруляцией целлюлар...
...руляция не произошл...
...его гипотезу.
Следует указать, что...
«заражения» одной к...
...что ход развития инф...
...ток эктодермы, напра...
...сохраняют...

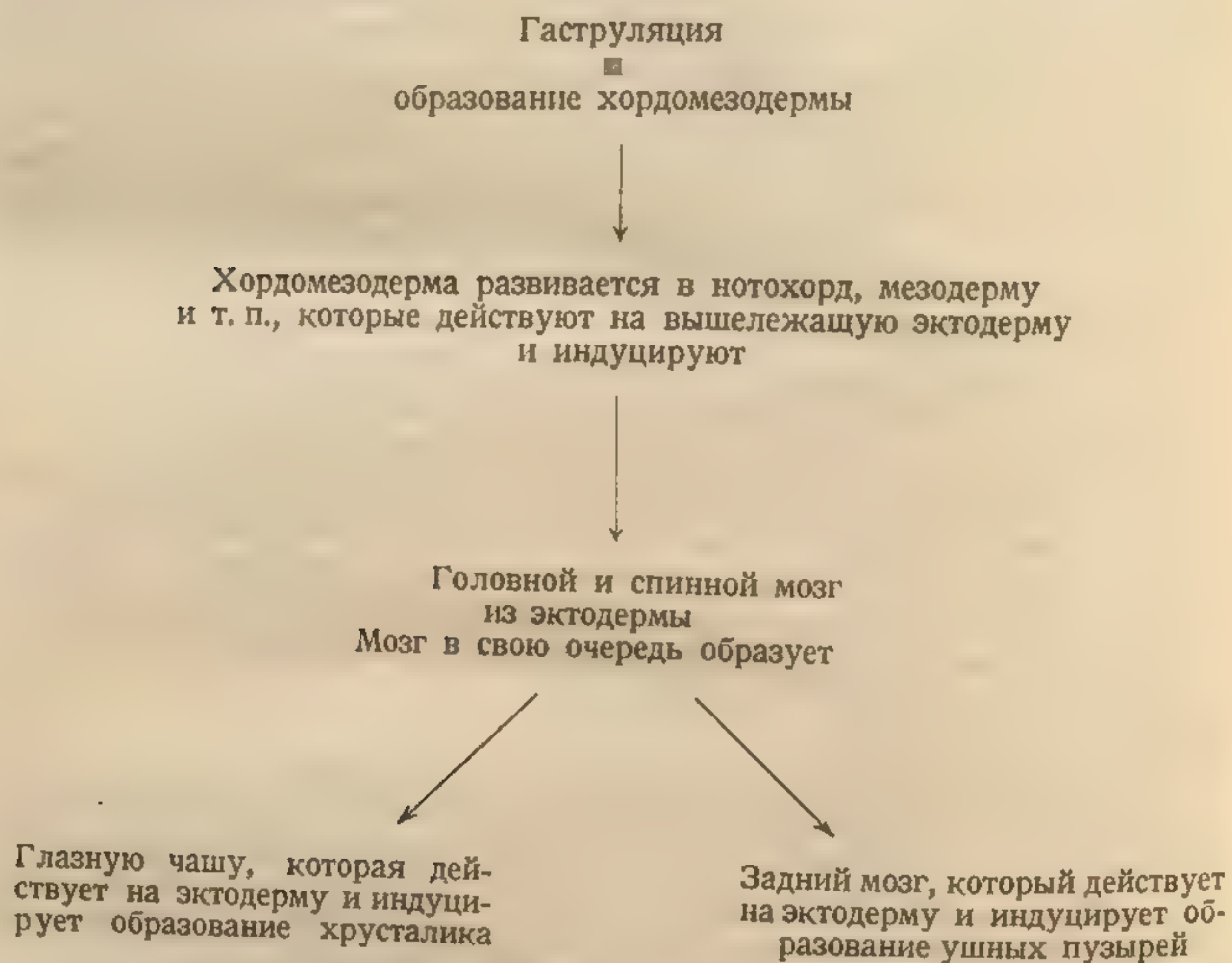
доказательств того, что какое-либо из этих веществ может выделяться хордомезодермой. Более чем вероятно, что индукция это не просто стимуляция одного слоя клеток другим путем выделения простого химического соединения. Скорее это сложный процесс, в котором как реагирующие, так и индуцирующие клетки оказывают взаимное влияние на метаболизм друг друга таким образом, что будущий ход развития тех или иных клеток становится детерминированным. Имеются, кроме того, интересные сведения несколько косвенного характера, заключающиеся в том, что тесная связь между клетками индуктора и эктодермой не должна быть бесконечной. После периода контакта индуцирующие клетки можно удалить, причем эктодерма продолжает развитие в направлении образования нервной ткани. В этом смысле хордомезодерма играет роль «спускового крючка», приводя в действие определенную цепь событий. Коль скоро эти события начались, вызвать отклонение развития эктодермы невозможно, — другими словами, ее потенциальные возможности в какой-то степени уменьшаются. В этом смысле дифференцировка — процесс необратимый, однако не следует в данном контексте слишком подчеркивать слово «необратимый». Необходимо еще провести опыты, доказывающие невозможность дедифференцировки.

Выше упоминалось, что в области гастролы, включающей организатор, интенсивность дыхания выше, чем в других участках яйца. Однако значение этой высокой дыхательной активности в индуцирующей функции организатора неизвестно. Создается впечатление, что интенсивность дыхания организатора и дыхания эктодермы, на которую он действует, вместе выше, чем сумма активностей обеих частей, взятых в отдельности [21].

Браше [67] показал, что изменения в концентрации и распределении нуклеиновых кислот и белков, содержащих сульфгидрильные группы, наступают во время гастрюляции в хордомезодерме и в лежащей над ней эктодерме. Согласно его представлениям [70], эти изменения указывают на активный метаболизм белков и РНК в микросомах хордомезодермы, содержащих РНК, и на большую роль ее синтеза в процессе индукции. Высокое содержание РНК в гранулах хордомезодермы, идентифицированных как микросомы, и крайне тесный контакт этих гранул с эктодермальными клетками, лежащими выше, навели Браше на мысль, что гранулы могут переходить из одного клеточного слоя в другой и, следовательно, участвовать в индукции. Чтобы проверить эту гипотезу, он поместил между хордомезодермой и эктодермой гастролы лягушки перед нейруляцией целлофановую пластинку [68], в результате чего нейруляция не произошла. Эти данные в известной мере подтверждают его гипотезу.

Следует указать, что эта концепция равносильна концепции «заражения» одной клетки микросомами другой. Подразумевается, что ход развития инфицированных клеток, в данном случае — клеток эктодермы, направляется инфицирующими частицами, которые сохраняют генетическую преемственность посредством удвоения.

Идея об инфицировании одной клетки частицами другой во время развития выдвигалась, помимо Браше, также и другими авторами, в частности Дальком [124], который утверждал, что индукцию можно сравнивать с инфекцией. Медавар и Биллингхэм [45] объяснили хорошо известный факт распространения пигмента из эксплантатов пигментированной кожи в непигментированные участки хозяина заражением окружающих бесцветных клеток частицами, образующими пигмент.



Фиг. 113. Пример цепного действия организаторов.

Хордомезодерма ни в коей мере не является единственной группой клеток, способных «заставить» другие клетки развиваться в определенном направлении. Возможно, что она играет первую роль в качестве индуктора, так как происходит из первой области в яйце, которая, по-видимому, детерминирована, но индуцированные в ее присутствии структуры могут в свою очередь действовать на другую недифференцированную ткань. Коль скоро эта последняя ткань частично дифференцируется, она в свою очередь может стать индуктором для других еще не дифференцированных клеток. Следовательно, развитие можно представить себе как своего рода цепь индукций, являющихся результатом активности последовательного ряда организаторов. На фиг. 113 приведен действительно существующий пример подобной цепи.

Организация и рост

Пространственная организация дифференцированных клеток вместе с регулируемым ростом сообщают целому форму и структуру, в результате чего возникает законченный организм. Весь процесс можно назвать морфогенезом — превращением целого в определенную организованную структуру — в отличие от дифференцировки, которая, по существу, представляет собой процесс развития локализованных различий. Морфогенетический процесс легко описать, пользуясь понятиями изменения структуры, но его нелегко проанализировать каузально. Относительно факторов, действующих в морфогенезе, известно еще меньше, чем о факторах дифференцировки. Более того, совершенно невозможно отграничить отдельные стороны морфогенеза, такие, как организация, от дифференцировки, так как положение группы клеток может определять ход их дифференцировки. Следовательно, в очень большой мере повышение организации эмбрионов в процессе дифференцировки происходит в результате влияния одной части на другую. Существующие в эмбрионе условия детерминированы предшествующими, и так вплоть до яйца.

Хотя факт зависимости каждого этапа развития от предшествующего может быть проанализирован лишь в очень общих чертах, поскольку нам неизвестен точный механизм воздействия одной части на другую, рассмотрение этого факта выдвигает на первый план существенный фактор времени. Очевидно, что явления, наступающие в развитии, не зависят от последующих, но эти последующие зависят от предшествующих. Если бы не было очень точной синхронизации, то развитие приводило бы к хаосу. Так, представим себе гипотетическую группу клеток, которые благодаря своему пространственному положению при нормальном ходе развития должны дифференцироваться в определенном направлении. Чтобы проделать это, они должны быть в состоянии реагировать на воздействие индуктора в то время, когда индуктор активен. Если клетки еще не готовы к этому в надлежащее время, то они либо не будут дифференцироваться дальше, либо начнут развиваться в другом направлении под влиянием иного индуктора. Следует ожидать, что результатом любого из этих случаев будет аномальный эмбрион. Хорошо установлено, что периоды, когда клетки обладают теми или иными потенциями, не являются неограниченными и что свойства самих индукторов могут изменяться, вследствие чего представляется очевидным, что для получения точных конечных результатов синхронизация должна быть очень строгой [669].

Второй очень важный фактор, который следует рассмотреть в связи с организацией, — это динамическое состояние эмбриона как выражение внутренних перемещений клеток и клеточных слоев. Во время развития эмбрион в целом находится буквально в состоянии внутреннего движения. Значительная часть этого движения обусловлена дифференциальным ростом, но многие клетки, такие,

как клетки ганглионарных пластинок, возникающих из эктодермы во время образования нервной трубки, в самом деле мигрируют из места своего возникновения в отдаленные участки тела. Нейробласты выпускают отростки, безошибочно растущие по направлению к органам, которые они должны иннервировать, превратившись в нервные волокна. У некоторых животных будущие половые клетки возникают вне ткани гонад, а затем мигрируют к гонадам. Это лишь некоторые из многих типов клеточной миграции, характерных для каждого развивающегося позвоночного. К этим перемещениям одиночных клеток можно добавить дифференциальный рост клеточных слоев, которые должны покрыть только некоторые участки, или направленный рост канальцев пронефроса по направлению к клоаке, где они в конечном счете образуют вольфов проток.

Какие факторы направляют эти передвижения? Если не считать, что каждая клетка наделена сознанием и стремлением к определенной цели, то ответ следует искать в области сродства и внутренней среды.

Хорошо известно, что сходные клетки притягиваются друг к другу и что даже различного типа клетки проявляют определенное сродство. Гольтфретер [287] показал, что если эксплантировать клетки эктодермы и энтодермы ранней гаструлы лягушки и смешать их друг с другом *in vitro*, то они сначала будут проявлять тенденцию к образованию общей массы. Со временем, однако, клетки каждого типа стремятся объединиться с себе подобными, и в результате энтодерма отделяется от эктодермы. Таким образом, первоначальная нейтральность или даже сродство между несходными клетками со временем уступает место сильному сродству однородных клеток друг к другу и, может быть, даже антагонизму между разнородными. Однако в то время, когда протекает дифференцировка, производные эктодермы, например, не обязательно обнаруживают сродство друг к другу вследствие своего общего происхождения. В самом деле, они могут проявлять ясный антагонизм и сродство к ткани, возникшей из другого зародышевого слоя. На фиг. 114 указано сродство и антагонизм нескольких частично дифференцированных тканей эктодермального происхождения. В общем мезенхима (производное мезодермы) обнаруживает сродство к клеткам большинства типов, что делает ее как бы особого сорта внутренним цементом эмбриона.

Помимо фактора сродства между клетками со сходными и несходными свойствами, нужно рассмотреть еще условия внутренней среды в эмбрионе. Эти условия, детерминированные самими же клетками, определяют в свою очередь события, протекающие в развитии, как было описано выше. При рассмотрении этого вопроса на уровне клеток или тканей становится совершенно очевидным, что клетки либо могут объединяться, потому что обладают сродством, либо благодаря наличию между ними каких-то сил притяжения, либо могут собираться в одном определенном месте, потому что условия там наиболее благоприятствуют типу их метаболизма. Будучи

однажды установлены, они могут создавать новый тип локальных условий, которые исключают инвазию другим типом клеток из-за антагонизма с протекающим в них развитием. Следовательно, можно представить себе, что блуждающая клетка в эмбрионе проследует по пути наименьшего сопротивления, будучи вынуждена проделать тот путь, который позволяет ей избежать неблагоприятной среды. Своего конечного местоположения она может достигнуть случайно, но она закрепится там вследствие сродства между нею



Ф и г. 114. Сродство и отталкивание некоторых эмбриональных тканей лягушки [287].
Объяснения см. в тексте.

и окружающими клетками. Таким же путем может быть ограничено распространение пролиферирующего пласта ткани или может быть направлена к месту назначения растущая трубка ткани.

Опыты Дальтона [126] на аксолотле служат прекрасным примером того, как вероятное изменение в клеточной среде делает невозможной миграцию определенных клеток. Аксолотль относится к хвостатым амфибиям, в коже которых в норме образуется черный пигмент. Генетически иная альбиносная форма, отличающаяся от нормальной одним геном, лишена кожного пигмента, за исключением имеющейся иногда темной области вдоль позвоночного столба. Путем пересадок кожи и культивирования тканей *in vitro* от животных обоих генотипов Дальтону удалось показать, что альбиносы обладают меланофорами, способными синтезировать меланин как *in vitro*, так и при пересадке в кожу нижней поверхности тела особей, как из линии альбиносов, так и черных. Меланофоры амфибий, как и у других позвоночных, первоначально возникают в эктодерме ганглионарной пластинки — эмбриональной ткани, лежащей точно дорзолатерально по отношению к спинной струне эмбриона, а затем мигрируют оттуда в виде меланобластов в различные участки кожи,

где превращаются в меланофоры и образуют пигмент. Заключение о том, что признак альбинизма скорее представляет собой следствие подавления миграции меланобластов, чем какого-либо изменения способности к синтезу меланина у части меланофоров, достаточно подтверждается наблюдением, что меланобласты обоих генотипов — альбиносов и черных — могут свободно мигрировать под эпидермис у линии черных, но ни те, ни другие не способны мигрировать в кожу альбиносов.

Природа сродства между однородными и разнородными клетками была теоретически рассмотрена Вейсом [682, 683], сформулировавшим для его объяснения очень интересную и изящную гипотезу. Допустим, что клеточная поверхность может существовать в различных состояниях, имея в виду типы проецируемых ею молекулярных конфигураций; тогда легко представить себе, что если две клетки имеют поверхности с дополнительными друг к другу конфигурациями, что, вероятно, имеет место у антигена и антитела, то они будут притягиваться друг к другу. Фиг. 115 помогает понять, как можно приложить изложенную концепцию к сродству между однородными и разнородными клетками. На этой основе можно объяснить сродство и антагонизм, а также существование различных степеней сродства.

Имеются веские доказательства того, что силы притяжения между клетками могут быть истолкованы на основе иммунологической теории. Притяжение между сперматозоидом морского ежа и яйцом, например, можно объяснить как результат комплементарности поверхностей этих клеток [658]. Яйцо содержит в своей желатиновой оболочке белок — фертилизин, который, будучи отделен от яйца, видимо, вызывает агглютинацию спермы посредством реакции с антифертилизином — белком клеточной поверхности. Отношения между фертилизином и антифертилизином соответствуют отношениям антигена и антитела, как видно из того, что оба они могут быть выделены из соответствующих клеток и способны образовывать преципитат. Следовательно, представляется ясным, что имеются активные факторы, вызывающие указанное сильное сродство между сперматозоидом и яйцом.

Предположив, что специфичность поверхности может определять клеточное сродство, легко представить себе, что движение изолированных клеток, рост клеточных отростков, а также рост трубок и пластов ткани может направляться по предопределенным путям, по «следам» из дополнительных поверхностей. Этот фактор может действовать в дополнение к фактору «следования по пути наименьшего сопротивления», разобранным выше, или же в сочетании с ним.

Проблема регулируемого роста представляет собой один из аспектов организации, так как организм регулирует рост своих собственных частей посредством особого рода внутреннего контроля, который является прямым следствием организации. Вероятно, легче всего вникнуть в сущность проблемы регулируемого роста

на примере регенерации ставшая печень, но растущая первоначально удаляемых животных.



А



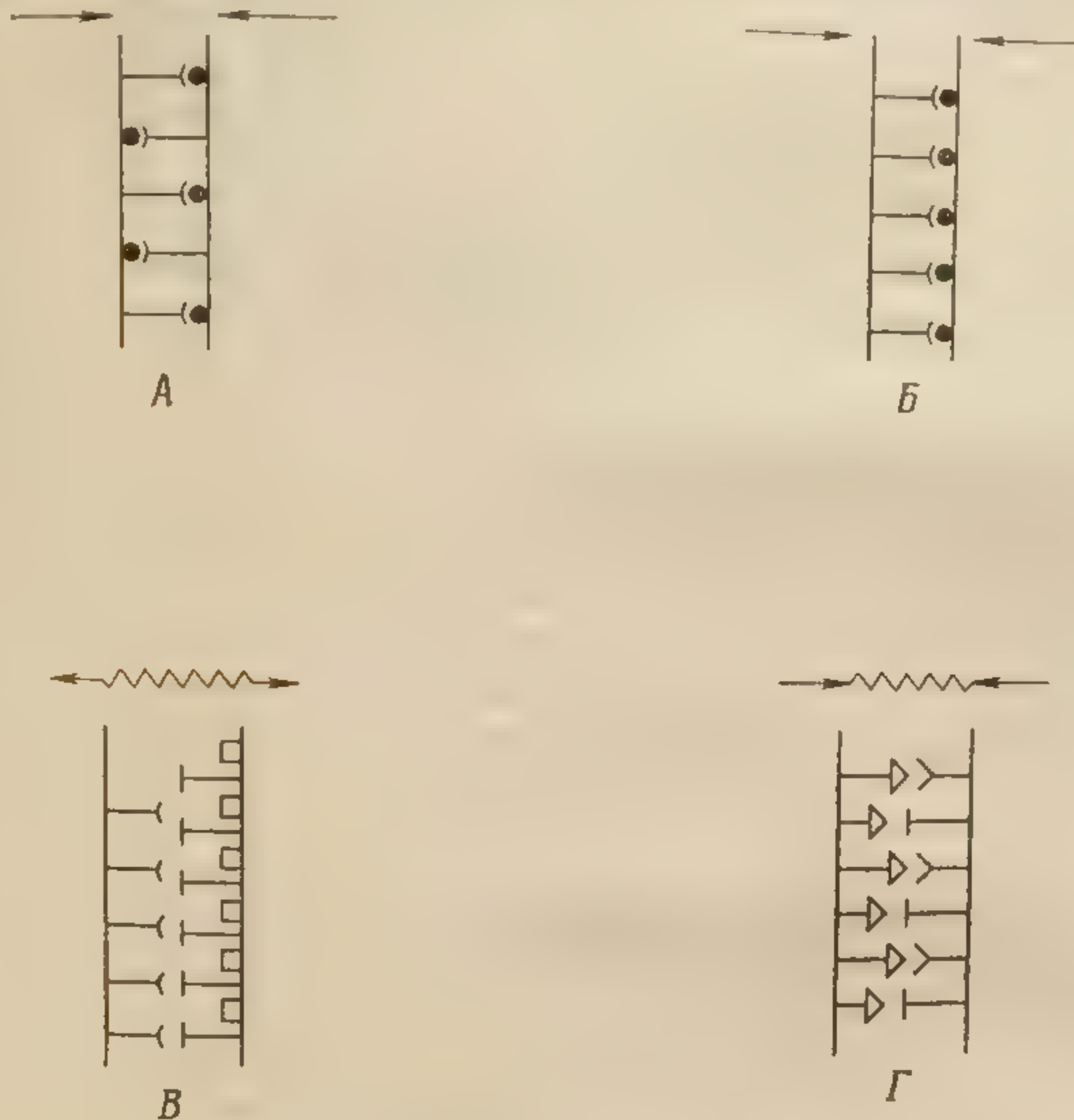
В

Фиг. 115
типы д

А — то же
поверхности
ками од
друг др
возмо
как на
друг др
верхност
няющие
пов

Каков же кон
спределенного раз
в этом могут участ
может быть отно
тающееся причина
за доступный
дует приня
при участ

на примере регенерации. Если удалить кусочек печени крысы, то оставшаяся печень немедленно начинает восстанавливать утраченную ткань, но растет лишь до тех пор, пока не восстанавливается первоначально удаленная часть. Аналогичные явления отмечены при регенерации других частей и органов, особенно у беспозвоночных животных.



ф и г. 115. Схемы, иллюстрирующие возможные типы дополняющих и недополняющих поверхностей [682, 658].

А — тождественные и дополняющие друг друга клеточные поверхности; схема иллюстрирует сродство между клетками одной ткани. Б — различающиеся, но дополняющие друг друга клеточные поверхности; схема иллюстрирует возможность сродства между клетками различных тканей, как например в каком-либо органе. В — не дополняющие друг друга клеточные поверхности; клетки с такими поверхностями обычно отталкиваются. Г — частично дополняющие друг друга клеточные поверхности; клетки с такими поверхностями могут проявлять слабое сродство.

Каков же контроль, определяющий, что орган будет расти до определенного размера, а затем прекратит свой рост? Очевидно, в этом могут участвовать многие факторы. Одним из таких факторов может быть отношение объема к поверхности, столь часто считающееся причиной клеточного деления; другим — конкуренция за доступный основной питательный материал. Наконец, следует принять во внимание прямое влияние одной части на другую при участии гормонов, нервной системы и т. п. Общий эффект этих

факторов создает динамическое равновесие, обеспечивающее относительное постоянство внутренней среды взрослого организма, роль которого так часто подчеркивалась Клодом Бернаром. Это равновесие, которое легко представить как результат взаимодействия частей, проявляется в форме саморегуляции, или гомеостаза, и его следует рассматривать как один из факторов развития. Рост одной части, естественно, в значительной степени зависит от доступных питательных веществ, доставка которых может быть ограничена, а отчасти от действия гормонов и нервной системы животных.

В качестве возможного дополнительного фактора регуляции роста рассматривается самоторможение. Рост органа до определенного размера можно легко объяснить, если в результате его метаболической деятельности возникают вещества, специфически тормозящие его собственный метаболизм. Чем больше растет орган, тем больше образуется ингибитора, так что, когда ингибитор достигает определенной пороговой концентрации, дальнейшее увеличение размеров полностью затормаживается. Роз [521] сообщил результаты экспериментов, подтверждающие эту гипотезу. Экстракты из органов взрослых кур оказывают очень четкое тормозящее действие на рост эмбриональных органов. Вместе с тем Вейс [682] опубликовал данные, которые кажутся прямо противоречащими вышеприведенным результатам. Кусочки печени от 6-дневного куриного эмбриона, будучи имплантированы в сосудистую зону 4-дневного куриного эмбриона, оказывают четкое стимулирующее влияние на рост печени хозяина. Эффект этот довольно специфичен, хотя и наблюдается некоторое общее торможение роста остальной части эмбриона. В сущности, эти данные не противоречат, а, напротив, дополняют друг друга. Добавление большего количества печени к частично развившейся печени просто допускает более быстрый рост за счет других органов, согласно принципам аутокатализа, рассмотренным в гл. XII. Если образование ингибитора в органе достигло подходящего уровня, его дальнейшее накопление ограничивается. Эмбриональный орган не способен к образованию достаточного количества ингибитора, чтобы вызвать этот эффект, но дефицитный орган образует достаточно ингибитора для подобного подавления.

РОЛЬ ГЕНОТИПА

Наиболее прямым методом анализа роли генотипа в развитии является определение эффекта мутантного гена по сравнению с эффектом его нормального аллеля. Этот метод просто сдвигает анализ фенотипических различий на ту стадию развития, на которой мутантные особи начинают обнаруживать отклонения от стандарта. Как и в любом исследовании, предпринятом для анализа действия гена, подобный подход не обязательно обнаруживает действие каждого гена в развитии, а вскрывает лишь отличия между их действием.

В
Изучение дей
с другим типом
кур [254. З
и фаз [24
поведения под
результатов.
Мутации, обл
для развития,
сравнивая влия
X-хромосоме Dr
развитие в яйце
вызывают разли
мосомы приводи
ления и к гибел
готность по нех
летальна, но в
стадий, пока н
в районе локуса
наступающие ме
мезодермальног
высшей степени
дермы развиваю
смерти, вызванн
включающие ло
область, привод
витии всех тре
женные наруш
Летальности
любой стадии
мутации. В та
обладающих л
по-видимому,
дует отметить
смерть наступ
или по крайн
Наблюдени
логичным резу
фенотипы или
мутантного ге
мальный ход
либо к смерти
лить из имею
собственным
Последств
появлен

Влияние генных мутаций на развитие

Изучение действия на развитие мутантных линий по сравнению с диким типом проводилось на многих организмах, но в основном на курах [254, 309, 338—340], млекопитающих [203, 204, 237—239] и дрозофилах [245, 494]. Мы опишем на нескольких примерах методы проведения подобных исследований и характер наблюдаемых результатов.

Мутации, обладающие летальным действием на некоторых стадиях развития, широко изучались на дрозофиле. Поулсон [494], сравнивая влияние ряда гомозиготных рецессивов (нехваток) в X-хромосоме *Drosophila melanogaster* на эмбриональное личиночное развитие в яйце, показал, что нехватки разных частей X-хромосомы вызывают различный летальный эффект. Полное отсутствие X-хромосомы приводит к дезорганизации яйца во время раннего деления и к гибели его до того, как образуется бластодерма. Гомозиготность по нехваткам маленьких сегментов X-хромосомы также летальна, но в общем развитие продолжается до более поздних стадий, пока не наступает гибель. Группа небольших нехваток в районе локуса white вызывает, в сущности, однотипные нарушения, наступающие между 12-м и 16-м часами развития. Органы и участки мезодермального и энтодермального происхождения проявляют в высшей степени аномальное развитие, тогда как производные эктодермы развиваются, видимо, без нарушений вплоть до наступления смерти, вызванной аномальным развитием других частей. Нехватки, включающие локус facet или непосредственно примыкающую к нему область, приводят к летальному эффекту менее чем за 12 час. В развитии всех трех зародышевых слоев эмбриона заметны ясно выраженные нарушения.

Летальность, обусловленная мутацией, может проявиться на любой стадии жизни дрозофилы в зависимости от типа летальной мутации. В табл. 52 приведен краткий перечень мутантных генов, обладающих летальным действием, и описаны аномалии, которые, по-видимому, непосредственно приводят к гибели организма. Следует отметить, что в каждом примере действия мутантного гена смерть наступает в разные периоды развития и от разных причин или по крайней мере сопровождается различными симптомами.

Наблюдения, сделанные на других животных, привели к аналогичным результатам, независимо от того, изучались ли летальные фенотипы или жизнеспособные морфологические мутанты. Действие мутантного гена по сравнению с нормальным расстраивает нормальный ход событий в определенный период развития, что приводит либо к смерти, либо к аномалии фенотипа. Насколько можно определить из имеющихся данных, мутация каждого гена обладает своим собственным характерным действием на план развития.

Последствия изменения гена, как правило, не ограничиваются появлением одного обнаружимого изменения в фенотипе. Сколько именно изменений будет выявлено, зависит от тщательности наблю-

дения. Эта так называемая плейотропия долго служила предметом разногласий среди генетиков, изучающих действие гена. Генетики развития, такие, как Грюнберг, ясно показали, что у

Таблица 52
Мутации дрозофилы, вызывающие летальный эффект на постэмбриональных стадиях развития [245]

Гены	Стадия гибели	Характер аномалии
Sy (Curly)	При вылуплении из яйца	Неспособность личинки продолжать дальнейшее развитие после завершения эмбриогенеза
B ²⁶³⁻²⁰	Личинка первого возраста	Дефективность кольцевых желез
l(2) me (meander)	Личинка третьего возраста	Неспособность усваивать пищу во второй половине личиночной жизни; общее постепенное замедление роста; не окукливается; во второй половине личиночной жизни интенсивность дыхания крайне низкая
l(2) gl (lethal giant larva)	Личинка третьего возраста — начало окукливания	Образование «псевдокуколки»; личинка прекращает дальнейшее развитие внутри куколки; главные имагинальные диски и мужские половые клетки дегенерируют до смерти личинки
l(3)tr (translucida)	Ранний или поздний период жизни куколки	Личинка обнаруживает аномальные признаки до достижения первого возраста; маленькое широкое тело; разбухает от избыточного количества гемолимфы и становится совершенно прозрачной; после окукливания имагинальная дифференциация становится почти полностью аномальной
crc (cryptocephal)	Поздний период жизни куколки	Голова не выпячивается и остается погруженной в торакс
l(2)lgt (leg tumors)	Молодые имаго	Опухоли ног

мышей и крыс сложные фенотипические проявления, вызванные одиночной генной мутацией, часто можно рассматривать как следствие изменения одного события в развитии. Например, наследственная ахондроплазия крыс [238] вызывает у этих животных сложный синдром, приводящий к ранней гибели. Среди более резких фено-

типических эффектов
высское сопротивление
ность дыхания, он
вита. Все эти а
обратном направл
мального развития
стадиях утробного
развития и метабо
«первичной» причи
Взаимосвязанность
уровнях организа
исходящее в одн
Обратимся для пр
форме имеет кра
затрудненное дых
женное мочеотдел
и сердечная недо
недостатком одно

Вместе с тем н
за счет одной на
тщательно изучая
этого. Sd (дэнфор
в гомозиготном со
летальная в гетер
в осевом скелете
развиваются непр
(у гомозиготных о
ных особей). Тща
обнаружило как
проявлялся бы
систем. Обе систе
производные мезо
Другие примеры
при помощи гипот
среди мутаций,
правило, эти му
водят дополните
видимому, блоки
возникают больш
ных мутация А^u
агути — летальн
дает жизнеспосо
Как в этом, так
присутствие или
внутренними ан
ствительно пр
В насто
является

типических эффектов следует упомянуть неспособность к сосанию, высокое сопротивление в артериях легочного круга, недостаточность дыхания, окклюзию передних зубов и общую остановку развития. Все эти аномальные обстоятельства можно проследить в обратном направлении до единичного первичного эффекта — аномального развития хряща, которое впервые проявляется на ранних стадиях утробного развития. На основе того, что нам известно о развитии и метаболизме, мы и должны были ожидать такой простой «первичной» причины с крайне сложными конечными результатами. Взаимосвязанность отдельных частей целого организма на всех уровнях организации заставляет предполагать, что изменение, происходящее в одной части системы, скажется на всех ее частях. Обратимся для примера к болезни бери-бери. Эта болезнь в острой форме имеет крайне сложный комплекс симптомов, в том числе затрудненное дыхание, учащенный пульс, тошнота, понос, пониженное мочеотделение, сердцебиение, посинение кожи, отек, неврит и сердечная недостаточность — сложный фенотип, обусловленный недостатком одного витамина — тиамина.

Вместе с тем не все сложные изменения фенотипов можно отнести за счет одной начальной причины. Глюкон-Шонгеймер [202, 203], тщательно изучая мышей линии *Sd*, приводит интересные примеры этого. *Sd* (дэнфортские короткохвостые) — доминантная мутация, в гомозиготном состоянии летальная вскоре после рождения и полуметальная в гетерозиготном состоянии. Аномалии обнаруживаются в осевом скелете и в мочеполовой системе; позвоночник и хвост развиваются неправильно; метанефрос либо совсем не развивается (у гомозиготных особей), либо совершенно аномален (у гетерозиготных особей). Тщательное исследование ранних стадий развития не обнаружило какого-либо единого каузального фактора, который проявлялся бы морфологически, связывая аномалии этих двух систем. Обе системы мезодермального происхождения, однако другие производные мезодермы, видимо, не затрагиваются этой мутацией. Другие примеры крайней плейотропии, которую трудно объяснить при помощи гипотезы «одной первичной функции гена», можно найти среди мутаций, влияющих на цвет шерсти млекопитающих. Как правило, эти мутации, помимо изменений в пигментации, производят дополнительные действия. У серого летального мутанта, по видимому, блокируется образование желтого пигмента шерсти и возникают большие аномалии в скелете [237]. У тех же самых животных мутация A^y (желтая окраска шерсти) — один из аллелей серии агутти — летальна в гомозиготном состоянии, а в гетерозиготном — дает жизнеспособное потомство с шерстью желтого цвета [517]. Как в этом, так и в предыдущем примерах трудно связать простое присутствие или отсутствие меланинового пигмента с обширными внутренними аномалиями. Ген A^y в гомозиготном состоянии действительно приводит к прекращению развития на стадии бластулы. В настоящее время совершенно невозможно решить вопрос о том, является ли каждый ген моно- или полифункциональным в своем

первичном действии. Грюнберг [238] вместе с несколькими другими генетиками на основании изучения развития млекопитающих пришел к решению, что ни один пример плеiotропного действия генов не является «подлинным». Все они «ложные», так как всегда можно показать, что единичное изменение в развитии может вызвать, казалось бы, не имеющие к нему отношения фенотипические изменения, возникающие в результате мутации одного гена. Вопрос этот можно будет решить только при более глубоком знании действия гена. Возможно также, что самый вопрос как таковой не имеет большого значения. В настоящее время у нас нет достаточно веских оснований твердо занять какую-либо определенную позицию.

При исследовании механики развития мутантного фенотипа нередко можно обнаружить, что определенные органы или ткани на очень ранних стадиях эмбриогенеза развиваются нормально, а затем внезапно начинают развиваться аномально. Часто при этом наступает регрессия или, возможно, дедифференцировка, и пораженная ткань может почти исчезнуть. Это явление можно иллюстрировать на примере наследственного рецессивного признака *rumpless* у кур [726], который выражается в неполном развитии хвостовой части осевого скелета. Зачаток хвоста, включая элементы мезодермальной и нервной ткани, развивается нормально по крайней мере до середины четвертого дня. В это время нервная ткань, образующая нервную струну будущего хвоста, начинает дегенерировать и исчезать, что сопровождается умеренной дегенерацией материала нотохорда. В отличие от проявлений рецессивного признака *rumpless* внешне аналогичный признак — доминантный *rumpless* — проявляется в аномальном развитии хвостового зачатка в момент его первого появления в эмбриогенезе.

Дегенерация, сходная с вызываемой рецессивным признаком *rumpless* у птиц, была найдена у мышей мутантной линии *Sd*. У этих мутантов хвост развивается нормально вплоть до 10-дневного возраста после оплодотворения. При этих обстоятельствах все части хвоста начинают обнаруживать признаки дегенерации и к 12-му дню нервная трубка, струна нотохорда и сомиты хвоста исчезают.

Явления дегенерации происходят и при нормальном развитии (например, разрушение личиночной ткани в куколке насекомых), и поэтому, вероятно, не следует удивляться, что они имеют место в аномальных условиях. Однако сдвиг направления развития вспять как результат изменения единичного гена тем не менее представляет значительный интерес. В одних случаях он может быть вызван тем, что в нужное время не появился соответствующий индуктор, а в других, возможно, объясняется неподходящими метаболическими условиями в месте локализации собственно дегенерирующей ткани. Вместе с тем детерминирующий фактор может быть внутренним и совершенно не зависящим от внешних влияний. Подойти к этой общей проблеме оказалось возможным через опыты с пересадками, рассмотренными в следующем разделе.

Трансплантация

Много внимания уделяется одним генотипическим реакциям трансплантации: трансплантатам, полученным из собственных или чужих эмбрионов. Немногочисленные примеры развития, вызванного взаимной трансплантацией, показывают, что только под косвенным воздействием, во всяком случае, по-видимому, во время трансплантации.

В качестве примера уже приводилось исследование, в котором следовало вспомнить о влиянии *sinuabag* в личинке пигмент. Было обнаружено, что обусловлена нарушением их неспособность синтезировать пигмент. В случае легкой дифференциации, поставившись трансплантатами, из фенотип во многих случаях с изменением споры с изменением, которые они неспособны, что из большого количества генов, из различных генов, двух указанных генов [29, 30, 731]. Почти терономными, а остальными, что это возможно, что это способности к дегенерации.

Изучение переднего процесса его развития в процессе его развития эмбриона на стадии оболочка с дегенерацией в области гомозиготных эмбрионов, по-видимому, желточном мешке, виваются почти во всех особях обнаруживаются структурных и строений способностей.

Трансплантации между животными с разными генотипами

Много внимания было уделено пересадкам кусочков ткани от особей с одним генотипом особям с другим генотипом с целью определения реакции трансплантата. Вообще результаты были очень просты: трансплантат развивался автономно, в соответствии со своим собственным генотипом, как если бы он не был пересажен. Немногочисленные исключения, при которых наблюдалось гетерономное развитие, являются, однако, наиболее поучительными для выяснения взаимоотношений, существующих в развитии, так как они показывают, что некоторые части эмбриона могут находиться только под косвенным влиянием мутантного гена, присутствующего, по-видимому, во всех клетках.

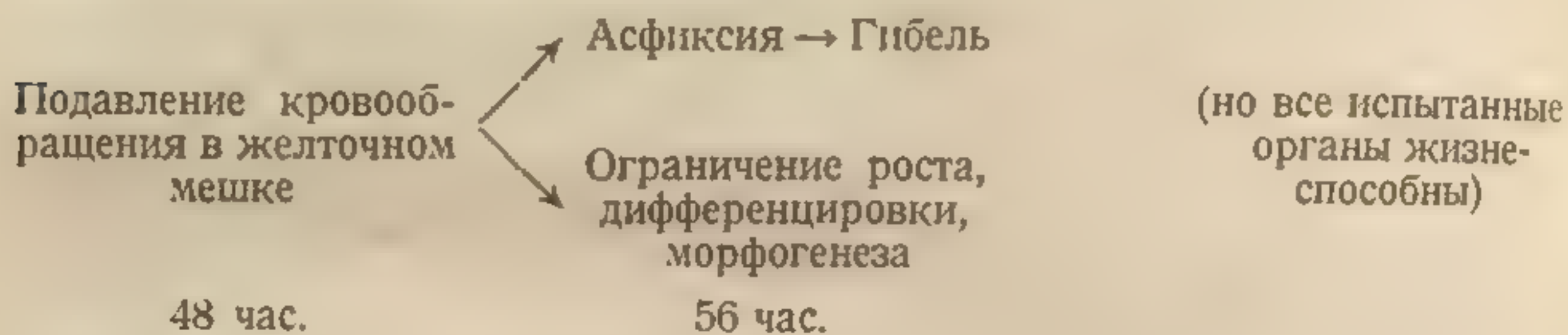
В качестве примера гетерономного развития трансплантатов уже приводилось развитие окраски глаз у дрозофилы (стр. 222). Следует вспомнить, что при пересадке зачатков глаз *vermillion* и *cinnabar* в личинку нормального генотипа вырабатывался бурый пигмент. Было обнаружено, что неспособность развить пигментацию обусловлена нарушением метаболизма мутантов, сказывающемся в их неспособности вырабатывать промежуточные вещества для синтеза пигмента. Промежуточные вещества оказались в данном случае легко диффундирующими по телу мухи и, следовательно, поставлялись трансплантату нормальным хозяином. Это действие на фенотип во многом идентично индукции роста у мутантов нейроспоры с измененным питанием путем добавления к среде веществ, которые они неспособны синтезировать. Заслуживает, однако, внимания, что из более чем 30 мутантных по окраске зачатков глаз из различных генотипов при испытании трансплантацией только у двух указанных генотипов была обнаружена гетерономная реакция [29, 30, 731]. Почему именно *vermillion* и *cinnabar* оказываются гетерономными, а остальные нет, остается неизвестным; однако вполне возможно, что это связано с факторами, подобными проницаемости, способности к диффузии, а также с организацией клетки или ткани.

Изучение передающегося по наследству признака *сгеерг* у птиц в процессе его развития проводили путем имплантации частей мутантного эмбриона на хориоаллантоисную оболочку (внеэмбриональная оболочка с дыхательной и выделительной функцией) в целом или в область глаза нормального хозяина. Признак *сгеерг* вызывается доминантным геном, летальным в гомозиготном состоянии. Гомозиготные эмбрионы погибают на третий или четвертый день инкубации, по-видимому, вследствие нарушения кровообращения в желточном мешке. Иногда случается «прорыв» и некоторые особи развиваются почти вплоть до конца инкубационного периода (фиг. 116). Эти особи обнаруживают крайние уродства костных и хрящевых структур [254]; у них поражены также глаза. Они мельче нормальных и страдают от *Colomba* [339]. Гетерозиготные особи жизнеспособны, но имеют чрезвычайно короткие и кривые ноги вследствие

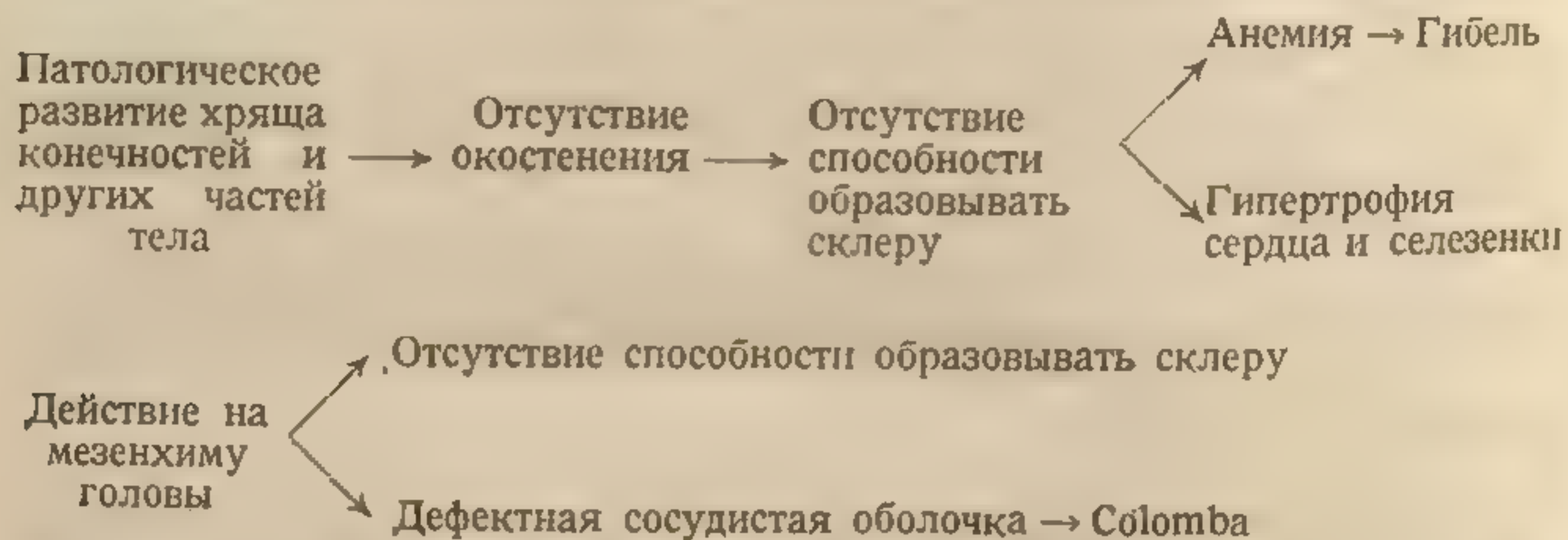
аномального развития хряща, предшествовавшего формированию кости [339].

Выращивая кусочки ткани от 60-часового гомозиготного эмбриона *сгеер* в культуре тканей или на хориоаллантоисной оболочке нормального хозяина, Дэвид [130] показал, что летальное действие гена *сгеер* на первый взгляд кажется неавтономным. Все испытанные ткани (сердце, презумптивный хрящ и т. п.) выживали и росли в течение длительного периода после того, как они, вероятно,

СрСр с ранним летальным действием



СрСр с поздним летальным действием (около 2% от общего числа особей *СрСр*)



Фиг. 116. Действие гена *сгеер* в гомозиготном состоянии у птиц [254].

прекратили бы рост, если бы оставались *in situ*. Материалы зачатка презумптивной конечности от молодого 30-часового эмбриона *сгеер*, однако, не развиваются в нормальные зачатки конечностей, но сохраняют ясные признаки *сгеер* [254, 523]. Это касается конечностей как гомозиготных, так и гетерозиготных доноров. Хотя развитие зачатка конечностей совершенно автономно, закладка глаза в гомозиготных мутантах гетерономна, что может быть ясно показано. Зачаток глаза гомозиготного *сгеер*, пересаженный нормальному хозяину после удаления глаз хозяина, развивается нормально, несмотря на свой генотип [254].

Ген *сгеер* имеет четкий плеiotропный эффект, как показано на фиг. 116, который усиливается, если эмбриону удастся преодолеть трудности, возникающие в результате нарушения кровообращения в желточном мешке. Из двух главных проявлений мутантного гена в эмбрионах, которым удалось развиться до конца инкубации, действие на образование конечностей представляется определенно

Таблица 53

Способность различных частей некоторых летальных мутантов развиваться в нормальном хозяине [244]

Мутант	Максимальная стадия развития целого насекомого	Имагинальные диски (глаза)	Судьба участка, имплантированного нормальному хозяину				соматическая ткань гонад
			закладка слюнной железы	закладка кольцевой железы	половые клетки		
					♂	♀	
Translucida 1(3)tr	Частичное, но аномальное развитие имаго в куколке	Претерпевают метаморфоз	Претерпевают метаморфоз	—	Созревают и становятся подвижными	Созревают в большей или меньшей степени	Претерпевает метаморфоз
Lethal giant larvae 1(2)gl	Куколка не развивается, образуется только пупарий	Не развиваются и гибнут	Не развиваются и гибнут	Метаморфоз	Не развиваются и гибнут	Развиваются нормально, а затем гибнут	То же
Meander 1(2)me	Смерть на стадии личинки третьего возраста	Претерпевают метаморфоз	—	—	Созревают	Созревают, но стерильны	„ „

более непосредственным, чем действие на глаза, так как конечности развиваются автономно. Таким образом, можно думать, что мутация оказывает главное действие на образование конечностей, вероятно, нарушая нормальный ход образования кости и хряща, а кроме того, вторичный эффект на глаза. Гамбургер [254] считает, что нарушенное развитие глаз у мутантов является результатом первичного действия гена на мезодерму головы, так как если привести глаза в контакт с нормальной мезодермой головы, то они развиваются нормально. Объяснение этих наблюдений заключается в том, что ген *сгеер* действует непосредственно только на образование кости и мезодермы головы и косвенно (или совсем не действует) — на ткань глаза.

В табл. 53 приведены результаты серии опытов по пересадкам, в которых части летальных личинок дрозофилы имплантировали нормальному хозяину. Эти данные подтверждают заключения, сделанные по результатам пересадок у кур *сгеер*. Следует подчеркнуть, что многие ткани, которые бы неизбежно погибли в нетронутом летальном насекомом во время летального кризиса, не погибают, будучи пересажены нормальному хозяину. Пример развития различных тканей летальной гигантской личинки представляет особый интерес. В этом случае можно видеть, что глазные имгинальные диски, мужские половые клетки и закладки слюнных желез совершенно неспособны развиваться в нормальной среде, но кольцевые железы и соматическая ткань гонад продолжают дифференцироваться до взрослого состояния. Женские половые клетки, развивающиеся в нормальном хозяине, повреждены частично, так как их развитие заходит дальше момента, когда они погибли бы, оставаясь в летальной личинке, однако затем они все же гибнут, не достигнув зрелости.

ГЕНЕТИКА

Изменение в результате факторов не... оказывают влияние... ограничивает... Несмотря на... событие, она... обнаружимо... приводящего... являются рез... наследственно... основы. Сред... различной ст... вать, что в о... клеточного о... ли ожидать... ций не буду... истощения з...

Изложение... клетки нико... во времени... изменений в... развития, ст... ным, что био... вешены и ч... постоянную... метаболитов... личным пор... сов. Может... ференциров... образуя нов... процессы. Э... шением гене... ствительност... так как он... цированной

Глава XIV

ГЕНЕТИКА, РАЗВИТИЕ, ПИТАНИЕ И ЗАБОЛЕВАНИЕ

Изменение в организме может произойти путем мутации или в результате колебаний условий внешней среды. Ни один из этих факторов нельзя считать независимым от другого, так как оба они оказывают влияние на характер обмена веществ и каждый из них ограничивает степень изменений, которую может вызвать другой. Несмотря на то, что мутация представляет собой скачкообразное событие, она может вызвать эффект почти любой степени — от едва обнаружимого известными нам методами до слишком сильного, приводящего клетку к гибели. Такие различия в степени эффекта являются результатом степени размаха изменчивости мутирующего наследственного фактора и влияния существующей генетической основы. Среда также может вызывать изменения обмена веществ различной степени. Однако возникает вопрос: можно ли рассчитывать, что в отсутствие мутаций и при постоянстве среды процессы клеточного обмена веществ будут оставаться неизменными? Можно ли ожидать при таких условиях, что относительные скорости реакций не будут изменяться и не будет происходить накопления или истощения запасов какого-либо метаболита?

Изложенный в гл. XIII материал показал, что организмы и их клетки никогда не бывают статичными, но постоянно изменяются во времени. Если клетки не будут изменяться, то без мутаций или изменений внешней среды не будет происходить клеточного деления, развития, старения или смерти. Представляется более правдоподобным, что биохимические системы никогда не бывают вполне уравновешены и что обычно происходит «сдвиг метаболизма», имеющий постоянную или переменную скорость и приводящий к накоплению метаболитов или к расходованию их запасов, а тем самым — к различным пороговым явлениям, характерным для жизненных процессов. Может быть, благодаря таким «сдвигам метаболизма» или дифференцировкам на молекулярном уровне клетки растут и делятся, образуя новые клетки, повторяющие в свою очередь те же самые процессы. Это один из самых сложных вопросов, связанных с отношением генетического строения к пищевым потребностям и чувствительности к заболеванию. Тем не менее вопрос этот очень важен, так как он вводит фактор времени и создает основу для дифференцированной реакции на действующие условия без мутационных

изменений или изменений внешней среды. При этом необходимо, конечно, допустить, что потенциальные направления и порядки величин «сдвигов метаболизма» ограничиваются и регулируются возможностями генотипа и окружающей среды.

Различные пути, которыми ген и изменения среды могут оказывать влияние на характер обмена веществ, подробно обсуждены в предыдущих главах этой книги, и надо полагать, что те же самые принципы применимы в тех случаях, когда имеет место явление «сдвига метаболизма». Как подчеркивалось выше, для понимания этих факторов необходимо знать, какие метаболические реакции имеют место и каковы относительные скорости, с которыми они протекают *in vivo*. При отсутствии таких подробных данных можно лишь предположить существование качественных связей между генетикой, развитием, питанием и заболеванием и посмотреть, насколько некоторые из сделанных наблюдений соответствуют этому общему подходу к проблеме. Вначале следует отметить, что обобщения должны делаться с большой осторожностью, особенно вследствие того, что крайне трудно получить и сохранить генетическую гомогенность любого экспериментального материала.

Часто индивидуальные различия могут быть обнаружены при данных условиях только по различиям в молекулярном строении или различиям в скоростях реакций. Таким образом, индивидуумы часто имеют очень сходные фенотипы, но обусловленные различными биохимическими причинами. Очевидно, что нежелательные признаки, сходные по проявлению, не обязательно должны исправляться одними и теми же средствами. В работах по вопросам питания и заболевания исследователи склонны пренебрегать исключительными случаями и исходят из средних величин и «нормальных» пределов отклонений при решении своих проблем. Такой подход был и является до сих пор практической необходимостью, но факты существования размаха колебаний и исключительных случаев указывают на необходимость изучения признаков индивидуумов. Как рассмотрено несколько дальше, продуманная и широкая программа исследований такого рода была предпринята Вильямсом и сотрудниками [690, 691]. Вряд ли можно сомневаться, что исследования такого рода в конце концов создадут более точную основу для диагностики и воздействия на неблагоприятные признаки у индивидуумов.

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ АНОМАЛИИ

Мутации часто приводят к наследственным аномалиям, достаточно далеким от «нормы», чтобы привлечь внимание исследователей и возбудить интерес к возможности изыскания средств для исправления вредного эффекта. Такие наследственные аномалии изучались очень широко у микроорганизмов, как например мутанты с измененным питанием, частично рассмотренные в гл. V и VIII. Эффект этих мутаций мог бы оказаться летальным в неадекватной окружающей

среде, но в присутствии подходящих метаболитов выживание становится возможным и часто наблюдается рост в нормальных пределах. Тем не менее, как подчеркивалось ранее, мутация и одновременная потеря биохимических свойств остаются признаком штамма, даже несмотря на «нормальный» рост его в присутствии одного только добавленного питательного вещества. Возможно полностью восстановить характер обмена веществ, существовавший до мутации, включая даже относящийся к воспроизведению гена и его функции, путем добавления подходящих компонентов в среду, но совершенно ясно, что большая часть клеток не имеет механизма для транспортировки всех необходимых веществ через мембраны в соответствующее положение внутри организованной системы. Естественно предположить, что простейшим путем для восстановления желаемых признаков мутантной клетки было бы обратное внесение нормального гена из окружающей среды. Он был бы наиболее подходящим «питательным веществом», но в настоящее время для этого еще не имеется подходящих средств. Тем не менее это не является невозможным, как показывают широкие исследования по трансформации и трансдукции у бактерий [14, 611, 748] и другим способам передачи наследственных признаков посредством внутриклеточных образований [376, 573]. Это, в сущности, равносильно тому, что мы обычно называем инфекцией, и в качестве таковой она может приносить вред; однако не имеется причин, в силу которых нельзя было бы сделать ее полезной, что, как известно, наблюдается у некоторых животных. Остается выявить, является ли такой подход осуществимым для высших организмов с высокой степенью дифференцировки. Они обычно бывают восприимчивыми к инфекции некоторыми видами внутриклеточных единиц, таких, как вирусы.

Проблема исправления известных наследственных аномалий у высших организмов не обязательно более сложна, чем у микроорганизмов. Она часто выглядит такой только потому, что мутации последнего класса часто бывают спонтанными и только полупалатными, так что их исправление не обязательно для выживания. Как отмечалось ранее, изученные мутанты микроорганизмов в большинстве своем были отобраны на основе исправимости летального эффекта мутации, и большинство семилетелей и штаммов, не соответствовавших действующим условиям среды, было отброшено. Такого рода отбор не может быть с пользой применен к высшим организмам, и в большинстве случаев еще неизвестны средства для облегчения неблагоприятных проявлений мутации, хотя многие летали, конечно, могут находиться в гетерозиготном состоянии. У диплоидных организмов или даже, как гетерокарпионы, у некоторых гаплоидных (стр. 29). Действительно, возможно исправить, по крайней мере отчасти, вредное действие неблагоприятного гена или группы генов у высших организмов и даже у человека. Некоторые примеры этого приведены ниже. Одним из существенных признаков многих вредных мутаций у высших организмов является

тот факт, что их проявление тесно связано с процессами развития. Так, особь может выглядеть нормально вплоть до определенной стадии развития, а достигнув ее, внезапно погибнуть или приобрести аномалии.

Некоторые летальные мутанты дрозофилы

Хэдорн и сотрудники [245, 246] наряду с другими авторами исследовали большое число леталей у дрозофилы по отношению к плану развития. Как показано в табл. 52, многие различные стадии развития подвержены характерному воздействию специфических мутаций. По крайней мере летальный эффект обнаруживается на разных стадиях, хотя представляется весьма вероятным, что это лишь степень проявления эффекта, и биохимические исследования обнаружат наличие аномалий на всех стадиях.

Примеры мутаций, вызывающих гибель вскоре после оплодотворения или в различные периоды после вылупления из яйца вплоть до взрослого состояния, были уже рассмотрены в гл. XIII. Во всех случаях имеются некоторые отклонения в степени влияния мутации. Некоторые особи в большей степени отклоняются от нормы до момента гибели; другие же могут быть подвержены серьезным влияниям именно в этот момент, но все же переживают критический период, чтобы погибнуть на более поздней чувствительной стадии. Некоторые особи могут даже развиваться до взрослого состояния. Хэдорн рассматривает эти феномены «прорыва» в связи с различными влияниями участвующих генов на проявление признака при донущении, что все летали «фазово-специфичны». Дело обстоит так, как если бы развитие представляло собой ряд барьеров, которые должны быть преодолены, чтобы процесс продолжался.

Это приемлемая и полезная точка зрения; она приводит к предположению, что критические фазы состоят в резком сдвиге скоростей или оказывают резкое воздействие на определенные этапы путей обмена веществ, но что до и, возможно, после критической стадии участки, наиболее подверженные влиянию мутации, уже не являются настолько важными для целого, чтобы вызвать существенные отклонения от нормального развития. Это положение согласуется с концепцией о том, что аномалии существуют все время, даже если, как это имеет место у мутантов с измененным питанием у микроорганизмов, условия могут быть исправлены в достаточной степени, чтобы стало возможно выживание и нормальное проявление признака. Хотя исследовать это и не просто, но очевидно, что многое можно сделать, работая с дрозофилой. Например, Глур [201] наблюдал, что личинка *l(3)tr* содержит очень низкий процент глобулина в гемолимфе. Впоследствии было обнаружено, что этот мутант накапливает большие количества свободных аминокислот и пептидов в жидкостях тела [201]. Это наводит на мысль, что мутация приводит к аномалиям в белковом синтезе на критической стадии развития.

Генетика
Некоторые
Большое разно-
мышей, и многие из
основе [204, 239].
разнообразия возд-
примеры аномалий

Некоторые летальные мутанты дрозофилы	
Признак	Ген
Yellow lethal	A ^y
Flxed	fl
Rhino	hrrh
Pituitary dwarfism	
Danforth's short tail	Sd
Hydrocephalus	hy

Два таких
fism, могут быть
действиями: пе-
ством трансплан-
новления нару-
Летальная жел-
летальный р-
как приз-

Некоторые наследственные аномалии у мышей

Большое разнообразие наследственных аномалий известно у мышей, и многие из них широко исследовались на эмбриологической основе [204, 239]. Такой подход дал много данных относительно разнообразия воздействий мутации на различные ткани. Немногие примеры аномалий у мышей сведены в табл. 54.

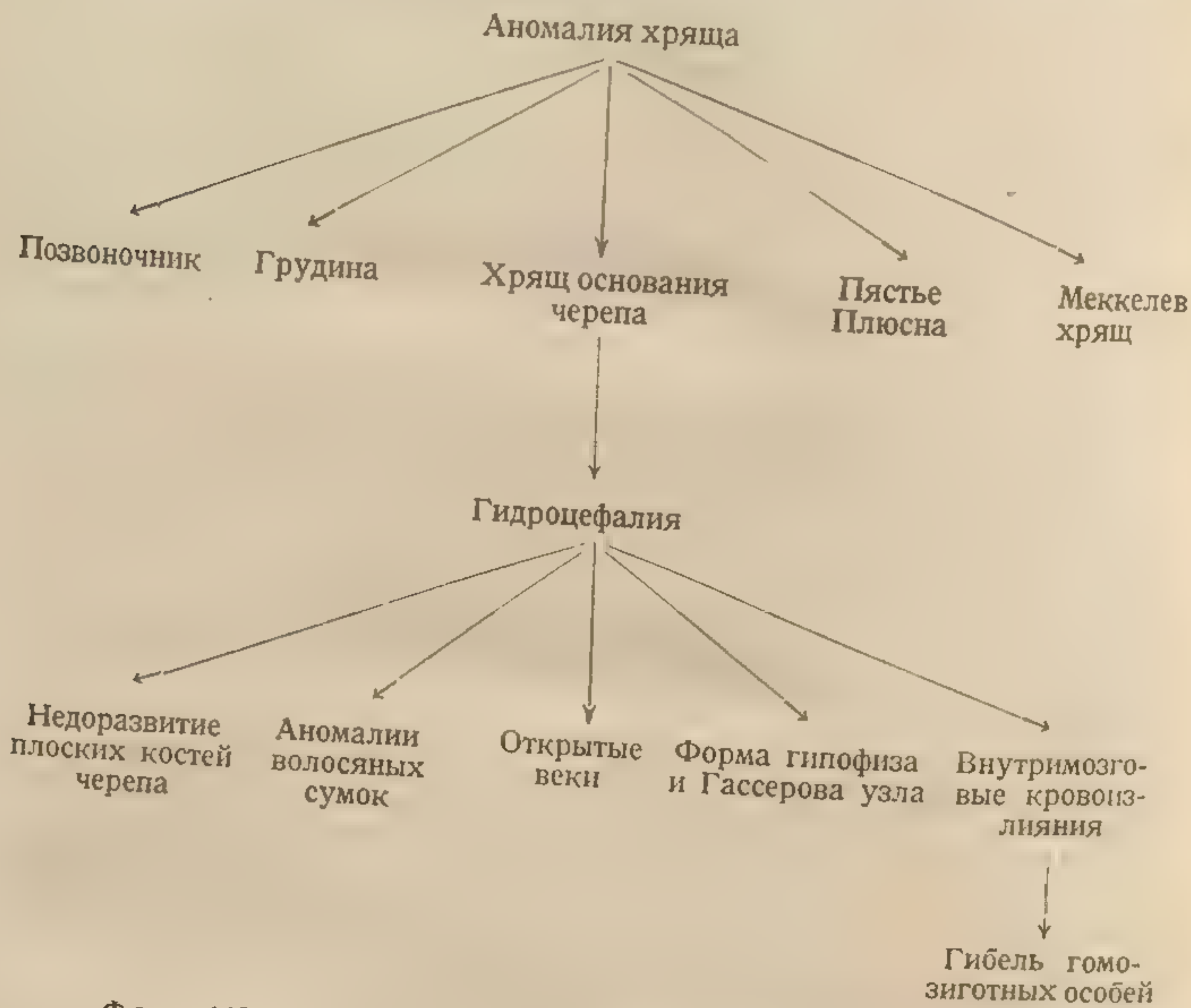
Таблица 54

Некоторые наследственные аномалии у мышей

Признак	Ген	Выражение
Yellow lethal	A ^y	Аномальная имплантация эмбриона в матке. Существенное воздействие оказывает генотип как эмбриона, так и матери
Flexed	fl	Вызывает скоропреходящую анемию у новорожденных, начинающуюся с 13-го дня после оплодотворения. Очевидная недостаточность гематopoэтической функции печени, проходящая после того, как начинается гематопоз в костном мозге. Приводит также к слиянию хвостовых позвонков и задержке роста эмбриона на ранних стадиях развития
Rhino	hrrh	Аномалия волос с гиперкератозом и депиляцией. В трансплантатах волосы, прилегающие к нормальным, сами развиваются нормально. Частичное излечение большими дозами витамина А
Pituitary dwarfism		Прекращение роста через 2 недели. Медленная дифференцировка. Стерильность. Прекращение роста и стерильности устраняются имплантацией гипофиза, но сам гипофиз остается аномальным
Danforth's short tail	Sd	Гетерозиготные особи имеют маленькие почки или совсем лишены их; в гомозиготном состоянии особь лишена почек и погибает. Короткий хвост или совсем бесхвостые. Другие позвонки слиты, аномальны или отсутствуют. Хвост развивается нормально до 10-го дня, после чего ткань дегенерирует
Hydrocephalus	hy и ch	Аномальное развитие костей головы и другие проявления. hy, очевидно, возникает вследствие аномалий в циркуляции на ранних стадиях эмбрионального развития, а ch — вследствие аномального развития хряща (см. фиг. 117)

Два таких наследственных признака, rhino и pituitary dwarfism, могут быть изменены по направлению к норме внешними воздействиями: первый путем питания витамином А, а второй посредством трансплантации нормальной ткани гипофиза. Полного восстановления нарушения не достигнуто ни в одном из этих случаев. Летальная желтая окраска является примером мутации, имеющей летальный эффект на очень ранних стадиях развития, в то время как признаки гидроцефалии обнаруживают сходные фенотипы, обу-

словленные иными генами и, вероятно, совершенно иного биохимического происхождения. Глюксон-Уэлч [204] подчеркивал, что сходные фенотипы, возникающие под влиянием разных мутаций, обычны у мышей и что каждый случай должен быть изучен по его собственным особенностям и по отношению к процессам развития. Такой подход широко использовался рядом исследователей. Проведенный Грюнбергом [239] анализ признака гидроцефалии,



Фиг. 117. Генеалогия причин признака гидроцефалии у мышей.

обусловленного *sh* мутацией (см. табл. 54), представлен на фиг. 117. Здесь указано, что первичный эффект мутации *sh* заключается в воздействии на процесс образования хряща на ранних стадиях развития и что последующие отклонения в развитии различных тканей и структур являются отражением этого первичного нарушения. Было сделано и дальнейшее заключение, которое кажется особенно важным при этом обсуждении, но которое не может быть в настоящее время подтверждено экспериментальными данными. Оно заключается в том, что первичная аномалия, обусловленная мутацией *sh*, обнаруживается в клетках, которые образуют хрящ. Можно ожидать, что биохимическая основа других типов клеток также

поражена, так как все клетки предположительно имеют один и тот же генотип. Несмотря на это, многие клетки и ткани кажутся нормальными. Эту трудность можно объяснить, используя предположение, сделанное ранее в связи с мутантами дрозофилы (стр. 297). Ясно, что различные клетки одного организма имеют разный характер обмена веществ и тем самым разные возможности для «сдвига метаболизма», и представляется вероятным, что специфические звенья обмена, наиболее подверженные воздействию мутации, подобной ch , особенно рельефны в экономике того типа клеток, которые порождают наблюдаемые фенотипические аномалии. На основании этого мутация оказывает некоторую степень воздействия на все типы клеток и во все периоды. Большие аномалии должны проявляться в критический период сдвига метаболизма, что обязательно имеет место при дифференцировке или как окончательный результат «сдвига метаболизма» — во взрослой системе.

Родственными этим критическим стадиям, возможно, являются «чувствительные периоды», рассмотренные в гл. II в связи с влиянием температуры на фенотип. Они представляют собой периоды, когда фенотип может быть заметно изменен путем воздействия на ход развития определенного типа стимулов, которые, будучи приложены в другие периоды, могут либо не иметь эффекта, либо оказывать влияние иного типа.

Как подчеркивалось Литтлем [382], наибольшее количество сведений о генетических аспектах рака получено на мышах. Ниже суммированы некоторые из известных фактов, связанных с этой проблемой. Появление опухолей у мышей независимо от того, являются ли они трансплантированными, спонтанными или индуцированными, есть функция генетической конституции хозяина. Наследование восприимчивости к трансплантату может быть сведено к немногим или даже к одному генетическому фактору путем инбридинга и отбора, но оно зависит также от генетической конституции самой опухолевой ткани. В общем появление спонтанных или индуцированных опухолей зависит от присутствия неизвестного числа генов в соответствующих сочетаниях, и признаки опухолей варьируют в зависимости от существующей определенной комбинации генов. Так, инбредная линия C_3H дает возникновение рака молочных желез у 97% девственных самок и у 90% рожавших, в то время как штамм А (Биттнера) дает 4% у девственных и 78% у рожавших [382]. Известны также штаммы, в которых возникают опухоли легких и надпочечников, а также лейкемия. Очевидно, что здесь имеет место гормональный эффект как в двух штаммах, упомянутых выше, и ясно также, что имеется и влияние матери, подобно тому, как в случаях передачи агента, вызывающего рак молочной железы, с материнским молоком потомству. В известном смысле эти факты являются дальнейшим выражением мультигенного и множественного эффекта, свойственного наследованию восприимчивости к раку.

По вопросу о возникновении рака при наличии благоприятного генотипа лишь немногие суждения могут быть окончательными. Рак возникает в результате изменения клеточных свойств, которые передаются через многие поколения клеток, и на этом основании можно думать, что он обусловлен мутацией. Действительно, большое число мутагенных агентов также и канцерогенны (рентгеновские лучи, ультрафиолет, азотный аналог иприта, дибензантрацен и т. д.) — факт, говорящий за происхождение раковой ткани путем соматической мутации. Однако это не является положением, обоснованным экспериментально.

Может показаться, что общие наблюдения относительно мультигенного наследования восприимчивости к раку находятся в резком противоречии с ранее рассмотренным наследованием различных признаков мышей, обусловленных, по-видимому, одним фактором, но на самом деле противоречие не так велико, как оно кажется. Выражение «однофакторных» мутаций часто значительно модифицируется на различном генотипическом фоне (см. гл. X); известны многочисленные наследственные признаки, при которых не только один мутантный ген оказывает достаточный эффект на фенотип при всех данных условиях. На одном генетическом фоне он может проявляться как эффект одиночного фактора, а на другом — как один компонент мультигенного признака. Что касается патологического состояния, подобного раку, необходимо учитывать осложнения, вносимые неоднородностью генетической конституции. Рак в гетерогенной популяции — болезнь отдельного индивидуума, и даже в инбредных популяциях независимо возникшие сходные опухоли не обязательно идентичны и потому не одинаково реагируют на одни и те же воздействия, по крайней мере по степени проявления.

Наследственные аномалии человека

Вполне естественно, что нам особенно интересны природа и средства облегчения наследственных нарушений человека. Известно большое число таких нарушений [192, 259, 607], и некоторые из них, такие, как алкаптонурия, серповидноклеточная анемия, идиопатическая метгемоглобинемия и фенилкетонурия, рассматривались уже довольно подробно в этой книге. Однако здесь нас интересует только принципиальная сторона вопроса, и в некоторых отношениях люди являются, несомненно, плохим объектом для изучения.

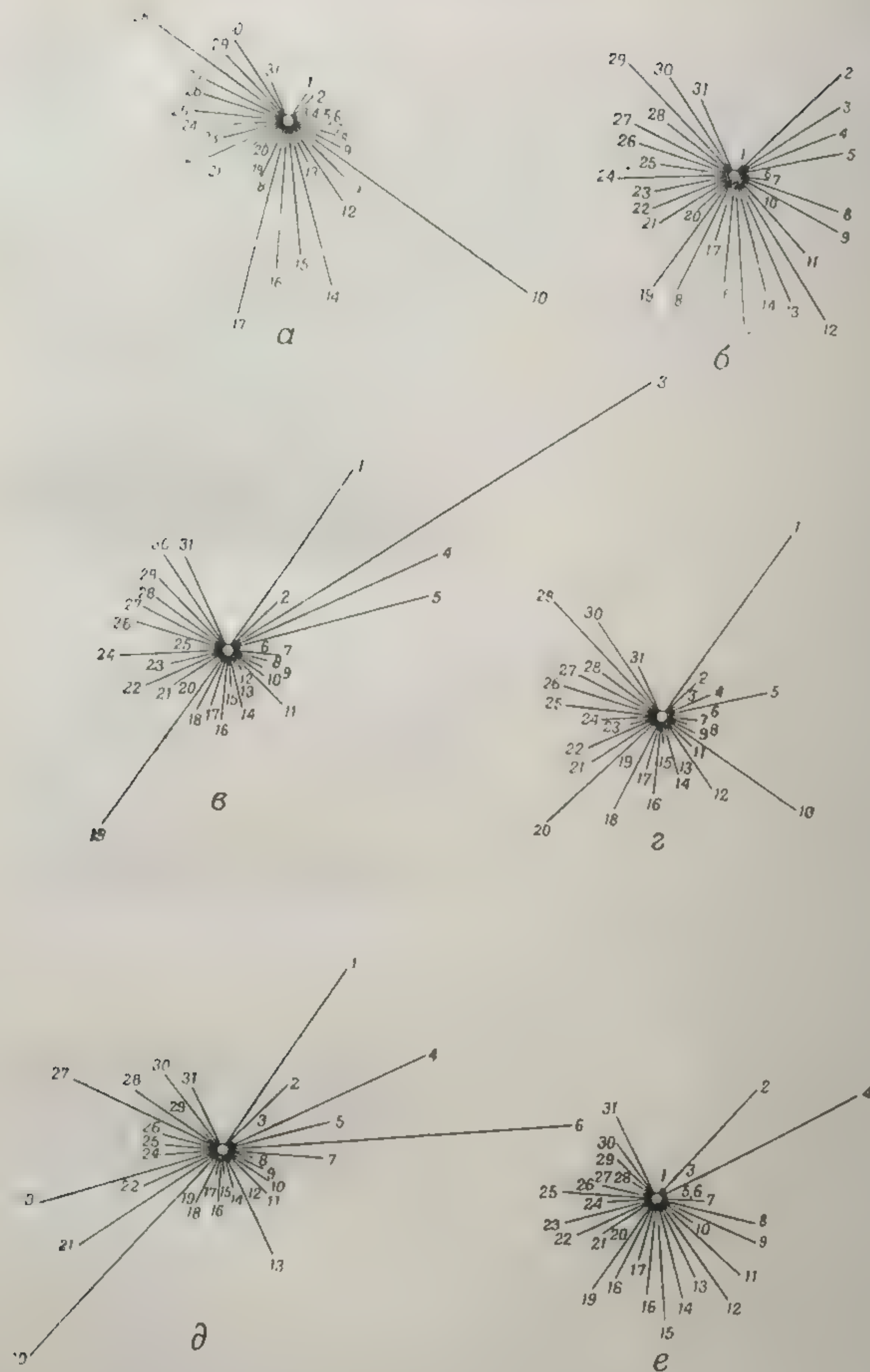
Очевидно, что контролируемые опыты по скрещиванию невозможны. Скрещивания вообще являются достаточно случайными, так что человеческая популяция крайне гетерозиготна и неоднородна. Мы очень отличаемся, как индивидуумы, друг от друга, и, имея в виду все уменьшающиеся географические препятствия нашему передвижению, следует ожидать, что эти различия возрастут еще больше, по крайней мере вначале. Однако проблемы генетики и равновесия популяции находятся вне компетенции настоящей

книги и были рассмотрены наиболее глубоко и полно в другом месте [143].

Тем не менее вопрос о различиях индивидуумов является весьма существенным для настоящей проблемы — попыткой очертить биохимические принципы, играющие роль в наследственной предрасположенности к болезням и пищевым нарушениям. Уже отмечалось, что среди особей дрозофилы или мышей, несущих вредные мутации, наблюдаются заметные индивидуальные отклонения и по крайней мере часть их обусловлена действием модифицирующих генов в инбредных, но все же не изогенных линиях исследуемых организмов. Это влияние гораздо значительнее в более гетерогенной человеческой популяции, и совершенно очевидно, что имеется огромное количество различий.

Как упоминалось ранее, наблюдались также различия на биохимическом уровне, особенно Вильямсом и сотрудниками [691]. Был определен химический состав крови, мочи и слюны, что показано на фиг. 118. Эти данные были получены при наблюдении над индивидуумом на протяжении определенного промежутка времени, и они решительно говорят о том, что эти планы строения представляют следствия наследуемых индивидуальных различий, даже несмотря на то, что могли иметь место индивидуальные пищевые режимы. Поразительное сходство планов строения 11 и 12 на фиг. 18 подтверждает это заключение, так как они относятся к идентичным близнецам. Эти результаты оказались в точности такими, каких можно было ожидать, рассматривая индивидуумы; но следует также ожидать, что генетические анализы будут крайне трудными и сложными с большим числом генов и комбинациями специфических генов, оказывающих влияние на различия в особенностях состава. До некоторой степени сходные анализы были проведены с мутантами дрозофилы [247] с демонстрацией больших изменений в строении, обусловленных единичными мутациями, но особи не изучались в отношении количественных различий. Было бы интересно изучить этот вопрос на таком материале.

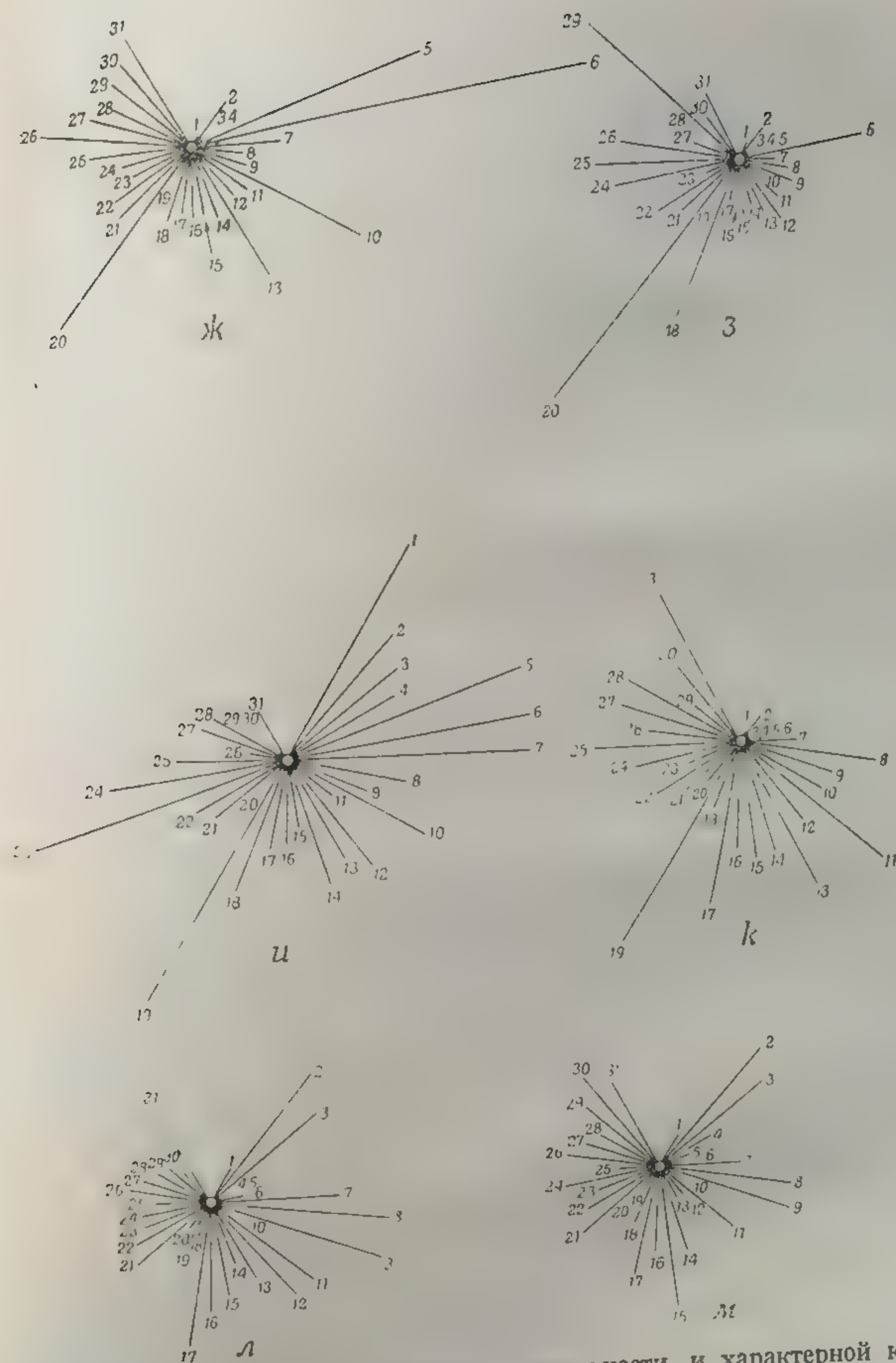
Этот биохимически-аналитический подход к систематике индивидуальных различий вначале является по необходимости эмпирическим, и его плодотворность зависит от корреляций между множеством факторов и наблюдаемым фенотипическим выражением. Он полезен в изучении происхождения и множественности воздействий наследственных нарушений и для различения нарушений, имеющих сходное фенотипическое влияние, с помощью более стандартных критериев. Эти проблемы вполне реальны и практичны, так как твердо установлено, что индивидуумы, имеющие одну и ту же болезнь, не обязательно подвергались одинаковым воздействиям. Таким путем и с помощью дополнительных анализов других метаболитов и биохимических катализаторов должно стать возможным изыскание многих новых диагностических критериев, полезных для распознавания как наследственных аномалий, так и инфекционных заболеваний.



Фиг. 118. Индивидуальные соотношения некоторых признаков у людей, центрацией компонентов

Длина полярных координат указывает относительное количество различных компонентов для № 11 и 12, которые являются

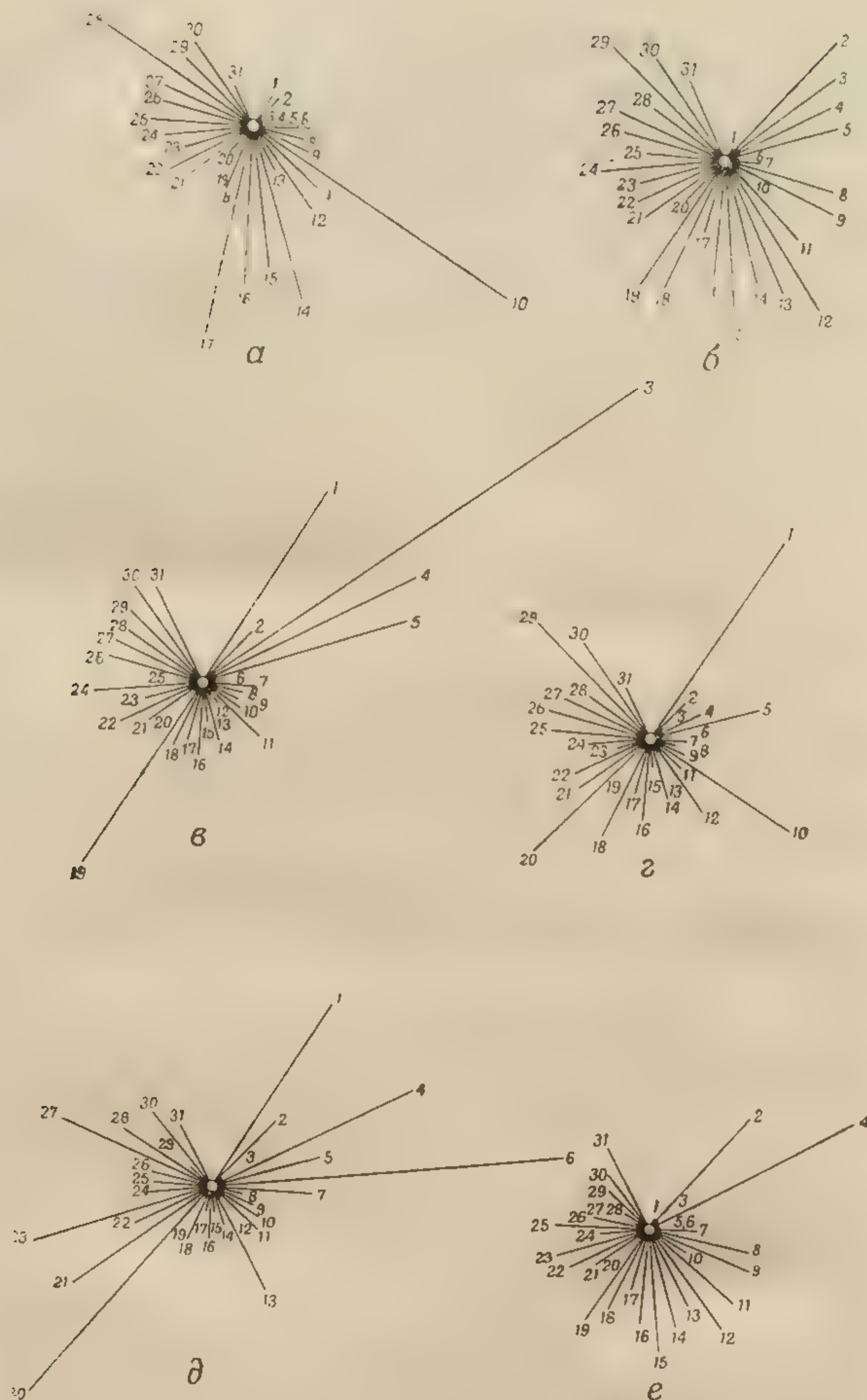
Вкусовая чувствительность: 1 — креатинин; 2 — сахароза; 3 — KCl; 4 — NaCl; 5 — HCl. цитруллин; 11 — аланин; 12 — лизин; 13 — таурин; 14 — глицин; 15 — серин; 16 — 19 — основание (R_f 0,28); 20 — кислота (R_f 0,32); 21 — гонадотропин; 22 — pH; 23 — креатинин; 27 — таурин; 28 — глицин;



обладающих особенностями вкусовой чувствительности и характерной кон-
слюны и мочи [691].

каждого индивидуума. Следует отметить сходство комплекса признаков для индивидуумов идентичными близнецами.

Компоненты слюны: 6 — мочевая кислота; 7 — глюкоза; 8 — лейцин; 9 — валин; 10 — глутаминовая кислота; 17 — аспарагиновая кислота. Компоненты мочи: 18 — цитрат; пигмент/креатинин; 24 — хлорид/креатинин; 25 — гиппуровая кислота/креатинин; 26 — 29 — серин; 30 — цитруллин; 31 — аланин.

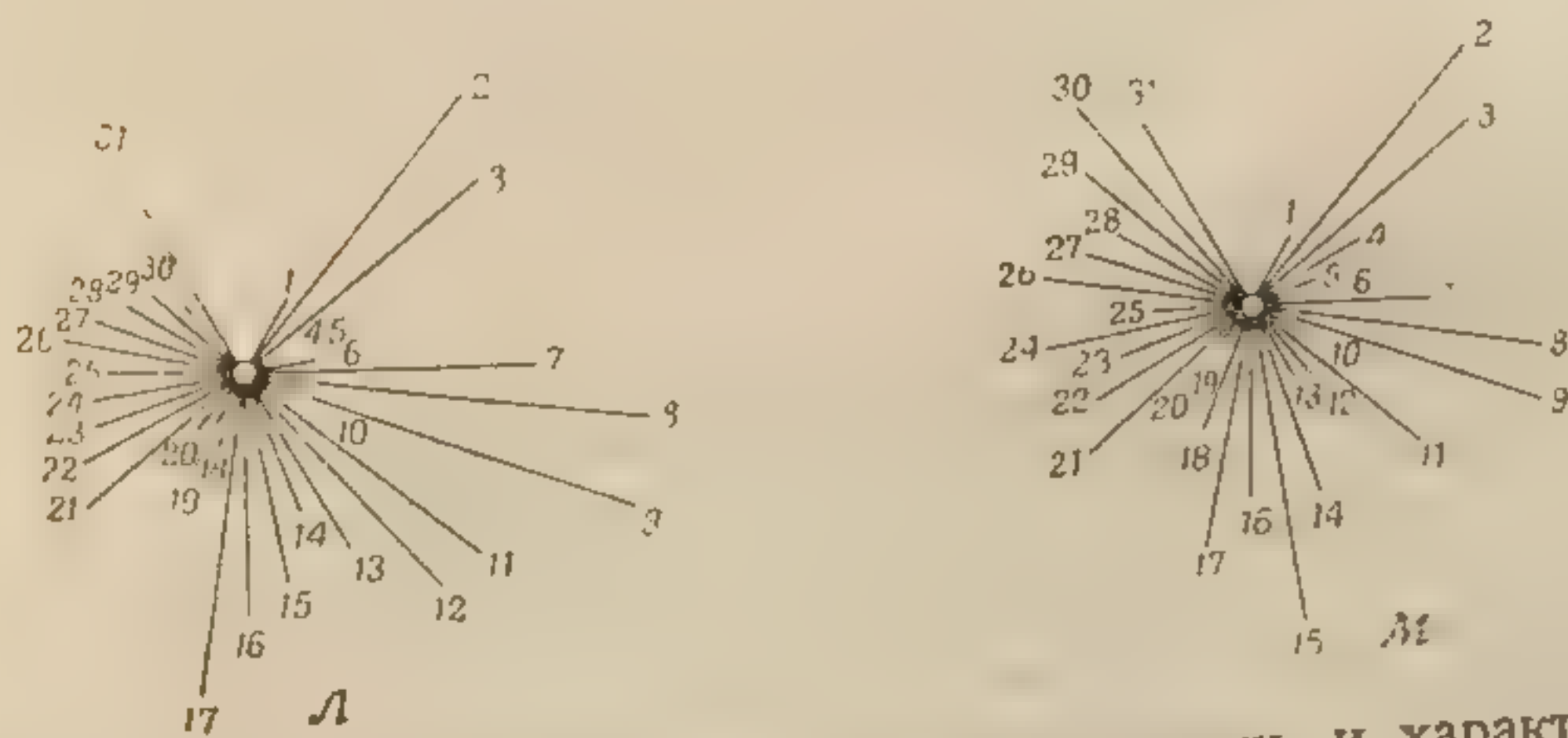
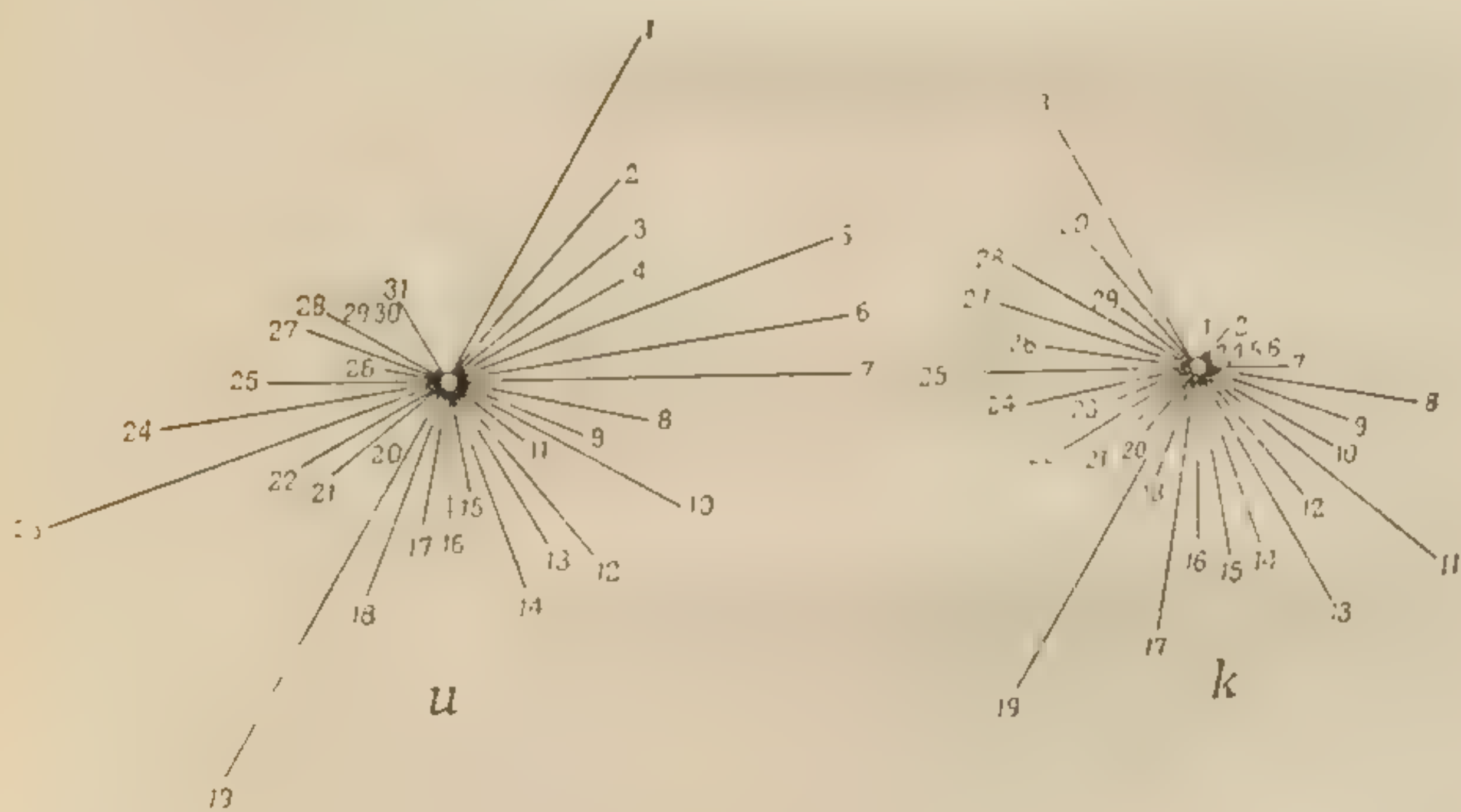
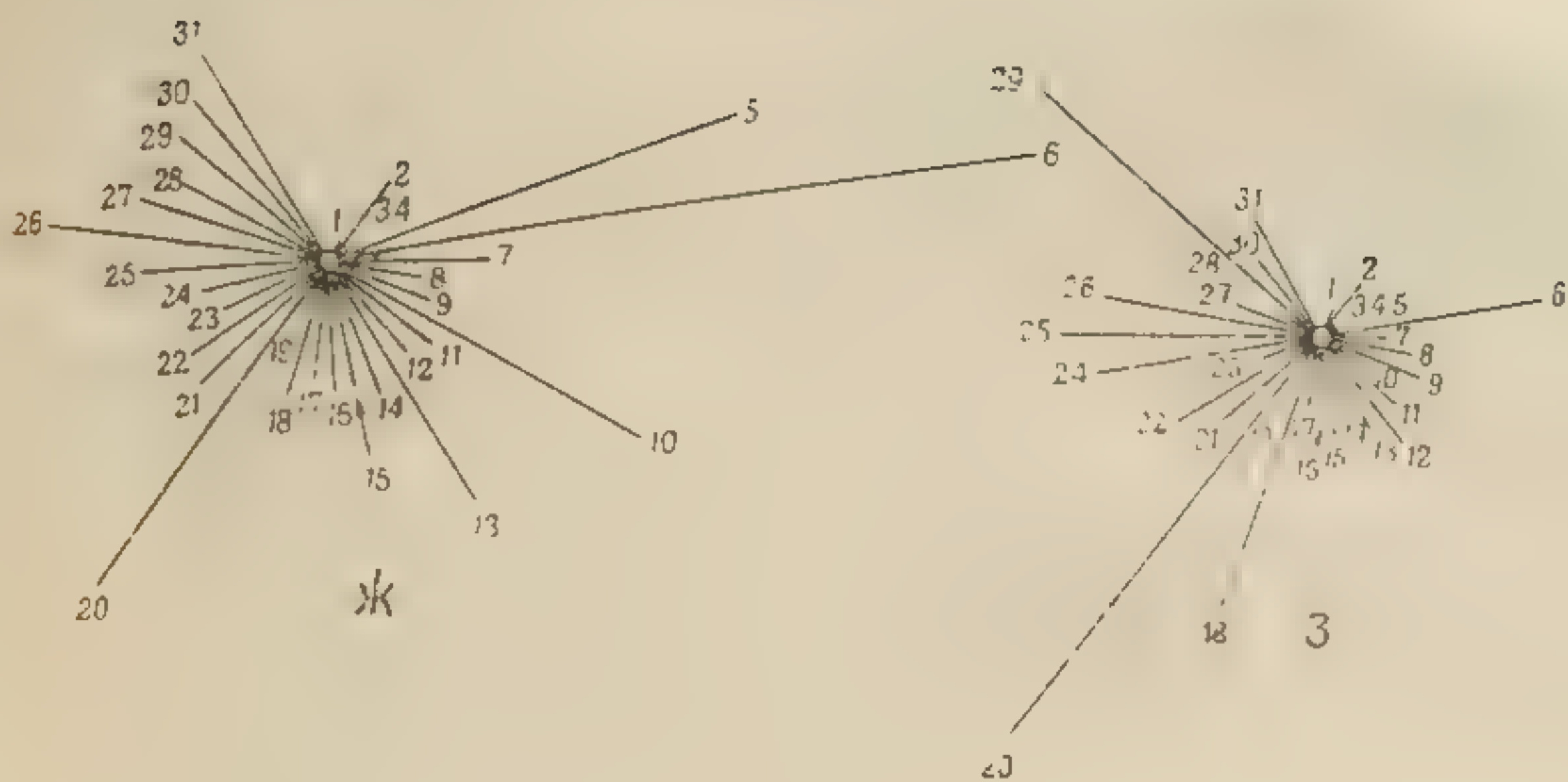


Фиг. 118. Индивидуальные соотношения некоторых признаков у людей, центрацией компонентов

Длина полярных координат указывает относительное количество различных компонентов для № 11 и 12, которые являются

Вкусовая чувствительность: 1 — креатинин; 2 — сахароза; 3 — KCl; 4 — NaCl; 5 — HCl. цитруллин; 11 — аланин; 12 — лизин; 13 — таурин; 14 — глицин; 15 — серин; 16 — 19 — основание (R_f 0,28); 20 — кислота (R_f 0,32); 21 — гонадотропин; 22 — pH; 23 — креатинин; 27 — таурин; 28 — глицин;

облада
слюны
каждого
идентич
Компон
глутами
пигмент
29 — сер



обладающих особенностями вкусовой чувствительности и характерной кон-
слюны и мочи [691].

каждого индивидуума. Следует отметить сходство комплекса признаков для индивидуумов
идентичными близнецами.

Компоненты слюны: 6 — мочевая кислота; 7 — глюкоза; 8 — лейцин; 9 — валин; 10 —
глутаминовая кислота; 17 — аспарагиновая кислота. Компоненты мочи: 18 — цитрат;
пигмент/креатинин; 24 — хлорид/креатинин; 25 — гиппуровая кислота/креатинин; 26 —
29 — серин; 30 — цитруллин; 31 — аланин.

в у людей,
компонентов
которые являются
асл; 5 — HCl;
серин; 2 —
— глицин;
— глицин.

НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ И ПИТАНИЕ

По-видимому, нет существенной разницы между принципами наследования потребностей в питательных веществах и принципами, относящимися к наследованию других аномалий, для которых неизвестны средства исправления. У микроорганизмов разнообразные мутации определяют потребности в питательных веществах, и они могут быть генетически простыми или сложными. Потребности бывают также в различной степени частичными и, по-видимому, абсолютными. Такого же разнообразия следует ожидать и у высших организмов, хотя имеется немного данных, подтверждающих это предположение. Исследования потребностей в питательных веществах обычно имеют дело с «нормальными пределами отклонений» или со средними величинами с практической точки зрения. Среди млекопитающих имеются значительные видовые различия: например, крыса не нуждается в аскорбиновой кислоте, а морская свинка и человек нуждаются в ней. Было показано, что у насекомых имеется большое количество различий. Например, Вагнер [670, 671] показал, что в группе из пяти близкородственных видов дрозофилы три из них (*aldrichi*, *mojavensis* и *buzzatii*) отличаются от других в отношении потребностей в питательных веществах, что было определено по их росту на различных штаммах дрожжей. Два вида (*mulleri* и *mojavensis*) были сходны друг с другом, но отличались от трех остальных видов. Интересно подчеркнуть, что эти виды дрозофилы настолько близко родственны, что обладают высокой степенью морфологического сходства и в значительной степени фертильны при межвидовых скрещиваниях.

Практически не известно таких мутаций млекопитающих, которые вызывали бы простую абсолютную потребность в питательных веществах, не существовавшую ранее. Может быть, специализация, необходимая для процессов развития, устраняет эту возможность, но, с другой стороны, не были проведены необходимые эксперименты. Это была бы важная задача. Эльсон [158] и Коллер [332] кратко сообщили об относительном эффекте тиаминовой недостаточности в нескольких инбредных линиях мышей. Используя линии MRC, Стронг А, С₅₇, СВА и С₃H, они обнаружили значительные различия между штаммами, находящимися на лишенной тиаминной диете, в отношении времени выживания, активности сукциноксидазной системы печени и цитологических аномалий при сперматогенезе. Такие результаты указывают на наследственные различия потребностей в тиамине, и представляется вероятным, что в гетерогенной популяции крыс могло бы быть найдено много уровней потребности в тиамине. Как упоминалось ранее, витамин А частично снимает вредный эффект мутации *ghino* у мышей, и это представляет собой ясный случай мутации, касающейся потребности в питательных веществах у млекопитающих. Что касается насекомых, то Хинтон и сотрудники [279] описали мутант дрозофилы, который при определенных условиях нуждался в аденине как в пищевой добавке.

Следует также использовать к...

нормального цв...
менным пит...
типофиза, реаги...
реагирующие на...
Эти относитель...
пищевых потреб...
с ожиданиями, о...
случаях ослабле...
не устраняет ген...
ствием, но прост...
рализации влия...
добавление в пи...
болитов. Этот...
и другими в бор...
больших количе...
голизму наследу...
и может возника...
деле, каждый от...
от другого, и бы...
из них мог бы б...
витамина. Все э...
окажется приме...
Однако пище...
ленных пределов...
быть, и больш...
высоких концен...
некоторые мута...
ного штамма...
229). Это подче...
ношений пищево...
ших дозах.

симбиоз и не...

До сих пор...
зом с взаимодей...
их окружавшей...
редко. Различ...
друг от друга в...
отношения на ра...
мыми для продо...
ные, например...
водов и от расте...
незаменимых ар...
и триптофан. В...
быть очень тесн...

Следует также напомнить, что мутанты дрозофилы, которые могут использовать кинуренин и окскинуренин для восстановления нормального цвета глаз, должны быть отнесены к мутантам с измененным питанием, так же как и мыши с карликовостью гипофиза, реагирующие на гормоны, или люди, больные диабетом, реагирующие на инсулин.

Эти относительно ограниченные наблюдения над наследованием пищевых потребностей у высших организмов вполне согласуются с ожиданиями, основанными на изучении микроорганизмов. Во всех случаях ослабление наследственных нарушений с помощью питания не устраняет гены или сочетания генов, обладающие вредным действием, но просто нейтрализует их действие. Одним из путей нейтрализации влияния вредной наследственности вообще является добавление в пищу избыточных количеств известных важных метаболитов. Этот путь был успешно использован Вильямсом [690] и другими в борьбе с алкоголизмом человека посредством введения больших количеств витамина В. По-видимому, склонность к алкоголизму наследуется, но, вероятно, определяется многими генами и может возникать при различных сочетаниях разных генов. В самом деле, каждый отдельный алкоголик, вероятно, заметно отличается от другого, и было бы, действительно, неожиданным, если каждый из них мог бы быть излечен одним и тем же путем, вроде добавки витамина. Все же этот путь может быть полезным и, возможно, окажется применимым к другим типам наркоманства.

Однако пищевые добавки можно использовать лишь до определенных пределов, так как хорошо известно, что некоторые, а может быть, и большинство метаболитов становятся ингибирующими в высоких концентрациях. Было показано, что у низших организмов некоторые мутации сильно увеличивают чувствительность мутантного штамма к торможению нормальными метаболитами (стр. 229). Это подчеркивает необходимость знания правильных соотношений пищевых компонентов, особенно если они даются в больших дозах.

СИМБИОЗ И НЕСПОСОБНОСТЬ К СОВМЕСТНОМУ СУЩЕСТВОВАНИЮ

До сих пор в нашем обсуждении мы имели дело главным образом с взаимодействием особей с неживой средой, непосредственно их окружающей, хотя такая изоляция если даже и достигается, то редко. Различные классы организмов часто очень сильно зависят друг от друга в отношении питательных веществ, и симбиотические отношения на расстоянии или в тесном контакте являются необходимыми для продолжения существования бесчисленных видов. Животные, например, зависят от растений в отношении образования углеводов и от растений и микроорганизмов в смысле получения с пищей незаменимых ароматических аминокислот, таких, как фенилаланин и триптофан. В этом случае связь между организмами не должна быть очень тесной, но во многих случаях физическая близость необ-

ходима. Например, жвачные зависят от действия микроорганизмов пищеварительного тракта, чтобы усваивать углеводы клетчатки из проглоченных растений, а термиты нуждаются в помощи симбиотических простейших для использования значительной части их древесной пищи.

В подобных случаях, а их немало, участвующие организмы не только способны к сосуществованию, но даже взаимозависимы, иногда почти в такой же степени, как взаимозависимы различные ткани в одном организме. Начиная с этой крайности наблюдаются различные степени взаимозависимости в сосуществовании организмов вплоть до другой крайности, когда они становятся антагонистическими, оставаясь полностью чуждыми друг другу и препятствуя выживанию одного или обоих в случае тесного контакта. Часто взаимозависимость и неспособность к совместному существованию встречаются одновременно, причем нередко во вред одному из участвующих организмов или обоим. Инфекционные болезни в общем относятся к этой категории. Они обладают признаками зависимости, антагонистичности и резистентности, обусловленными генетической конституцией участвующих организмов. Существующие условия среды и возможности «сдвига метаболизма» являются важными факторами в определении характера взаимодействия и направления взаимной связи на определенный отрезок времени.

Подобные положения содержат большое количество существующих и возможных переменных величин. Наличие адаптаций и мутаций создает основу для постоянного отбора особей, которые могут создать популяцию организмов с новыми признаками. Совершенно очевидно, что проблемы, связанные с пониманием взаимоотношений между организмами, так же, если не более, сложны, чем проблемы, касающиеся биохимической природы наследования для одного организма. В эту область вложено много труда, и некоторые примеры и соображения помещены ниже.

Бактериальные вирусы

Наиболее интересный и поучительный пример влияния наследственных факторов на инфекцию можно получить в последних и проводящихся в настоящее время работах по взаимодействию фага с бактерией. Фаги, или вирусы, которые заражают бактерии, распространены повсеместно; например, в сточных водах находится очень большое число различного рода фагов. Только немногие из них интенсивно изучались. Было создано много специальных методов для изучения наследования у фагов, а также и у бактерий-хозяев. Несмотря на то, что механизм передачи единиц наследственности у бактерий от одного поколения к следующему резко отличается от такового у высших организмов, совершенно очевидно, что при изучении этих систем обнаружены важные принципы [273, 274, 384].

Бактериофаг является абсолютным паразитом хозяина, так как он размножается только в бактериальной клетке. Он представляет

...и ма...
...те...
...количес...
...материалов...
...головку и...
...Разные шта...
...логи, анти...
...имеющими...
...особенности...
...следующим...
...к бактерии...
...живое, зак...
...а оболочки...
...отброшены...
...частиц. Одн...
...или даже п...
...акрилата м...
...при определ...
...на активнос...
...При этом пр...
...может вызв...
...снаружи.

Если им...
...лизисом, ба...
...ственного во...
...тельной. С...
...частицы в «...
...ющего фага...
...фагом (веге...
...30 до нескол...
...место нечто...
...частицы фа...
...пает реком...
...сочетания...
...возникать п...
...фага. Вслед...
...новая фагов...
...дая зрелые...
...с другой ба...

Инфекци...
...размножени...
...могут нести...
...виях назыв...
...могут быть...
...Это случает...
...фаг определ...
...частиц. Зар...
...ществляет п...

собой маленькое (примерно от 20 до 100 μ в диаметре) организованное тело, имеющее обычно белково-липидную оболочку, некоторое количество ДНК и, возможно, небольшие количества других материалов. Многие фаги имеют более или менее сферическую головку и длинный тонкий хвост; прочие фаги не имеют хвоста. Разные штаммы вполне удовлетворительно различаются по морфологии, антигенным свойствам и реакциям с бактериями-хозяевами, имеющими разную генетическую конституцию. Некоторые общие особенности отношений фага к бактерии могут быть суммированы следующим образом. Одна или несколько частиц фага прикрепляются к бактерии, причем хвостовые фаги прикрепляются хвостом. Содержимое, заключенное под оболочкой фага, переносится в бактерию, а оболочки, или тени, остаются снаружи. Они свободно могут быть отброшены и более не участвуют в образовании новых фаговых частиц. Однако тени, определенное количество целых фаговых частиц или даже неродственный синтетический полимер диметиламиноэтил-акрилата могут вызвать лизис бактериальной клетки снаружи при определенных условиях, по-видимому, посредством их влияния на активность ферментов, расположенных на поверхности бактерий. При этом процессе фаги не образуются. Одиночная фаговая частица может вызвать инфекцию, но не может вызвать лизис бактерии снаружи.

Если имеет место инфекция, не сопровождавшаяся немедленным лизисом, бактерия все же «убита», поскольку это касается ее собственного воспроизведения, если она является генетически чувствительной. С этого момента она начинает производить новые фаговые частицы в «сотрудничестве» с материалом, внесенным из инфицирующего фага в бактериальную клетку. Частицы, которые становятся фагом (вегетативный фаг), образуются в количестве примерно от 30 до нескольких сот на бактерию, и в течение этого процесса имеет место нечто равносильное скрещиванию фага. Если присутствуют частицы фага, имеющие различные наследуемые признаки, наступает рекомбинация с результатами, напоминающими случайные сочетания в маленькой популяции. Различные признаки могут возникать при двойной инфекции или при мутации вегетативного фага. Вслед за воспроизведением и рекомбинациями образуется новая фаговая оболочка, а бактериальная клетка лопается, освобождая зрелые инфекционные частицы фага, способные повторить цикл с другой бактерией.

Инфекция может иметь место и у резистентных бактерий, но размножения вегетативных фагов не происходит, хотя бактерии могут нести их в неограниченном ряде поколений. Фаг в этих условиях называется лизогенным. Его размножение и лизис хозяина могут быть вызваны облучением или химическими воздействиями. Это случается также и спонтанно, но с малой частотой. Лизогенный фаг определяется только по появлению лизиса и новых фаговых частиц. Зараженная резистентная бактерия размножается и осуществляет процессы обмена веществ, очевидно, нормальным путем.

Это находится в разительном противоречии с изменениями, сопровождающими заражение чувствительных бактерий. В последнем случае, как указывалось, бактерии не размножаются и, по-видимому, расходуют всю свою метаболическую энергию для воспроизведения фага. Их собственные вещества, по крайней мере ДНК, исчезают и превращаются в ДНК фага.

Различные стадии, имеющие место в процессе фаговой инфекции *E. coli*, были ясно очерчены [498]. Первичное присоединение обусловлено обратимым образованием электростатических связей между специфическими участками вируса и хозяина. Свойства этих участков являются наследственными признаками. Оболочка фага и ее содержимое затем разделяются, и процесс становится необратимым. Природа собственно инфекционного процесса различна в зависимости от характерных особенностей бактерии и вируса. Взаимодействие наследственных систем приводит к лизогенности либо к размножению вегетативного фага. Немногое известно относительно деталей этих процессов или процессов, связанных с созревaniem фаговых частиц. Однако ясно, что многие стадии и процессы находятся под влиянием генетической конституции.

В некоторых отношениях экспериментальные данные, касающиеся взаимодействия между фагом и бактерией, дают более точные подробности о природе инфекции в связи с генетической конституцией, чем системы, включающие высшие организмы. Здесь фаг сам по себе (но, возможно, не вегетативный фаг) является, по-видимому, совсем инертным, неспособным к осуществлению обмена веществ. Кроме того, он содержит детерминанты наследственности, видимо, в линейном порядке, так же как в более автономных, организованных системах клеточных организмов. В более сложных системах необходимо одновременно учитывать более или менее независимые пути обмена веществ хозяина и инфицирующего организма.

Имеется одно направление, связанное с отношениями фага и бактерии, которое следует упомянуть, хотя широкое обсуждение здесь невозможно. Оно касается процесса транспродукции у *Salmonella* и других бактерий, у которых наследственные признаки хозяина могут быть перенесены от одной клетки к другой [611, 748]. На основе имеющихся экспериментальных данных было выдвинуто положение, что фаг, образующийся в клетке донора, может включить некоторое количество материала, определяющего наследственность, в содержимое оболочки и может перенести его в клетку реципиента, где он заместит существующий гомологичный материал. Этот процесс происходит редко, а принимающий в нем участие фаг относительно неактивен, поскольку это касается лизиса или убивания клеток. Представляется вероятным, что трансдукция является особым случаем, родственным уже обсуждавшимся системам. В этой системе весь наследственный материал бактерии превращается, по-видимому, в вещества фага. Возможно, что при трансдукции это превращение не является полным. Относительно трансдукции известно значительно меньше, чем о системе бактериофага кишечной палочки,

описанной ра-
ные ценные
и взаимодей-

ГЕНЕТИЧЕСК

В отчетах
число приме
устойчивости
чении устойч
как на приме
ржавчине и г
так и у други
ческое значе
под вредным
ровать иногда
чувствительн
вирулентност
резистентност
выражения за
ких генов как
причине про
ходимость по
чтобы поддер
низмов. При
может быстро
место в ско
в одной особ
протекает по
в популяция

Вообще г
мых физическ
вующих в ре
возможностей
с фагом, хозя
ющую структ
с тем чтобы п
ции могли им
от особенностей
низмов, котор

У животн
мов, способст
Сюда относят
таких, как с
внедрение чу
варивающие
вырабатываю
данные отно

описанной ранее, но дальнейшие исследования дадут дополнительные ценные сведения, касающиеся действия инфекционных агентов и взаимодействия наследственных признаков хозяина и вируса.

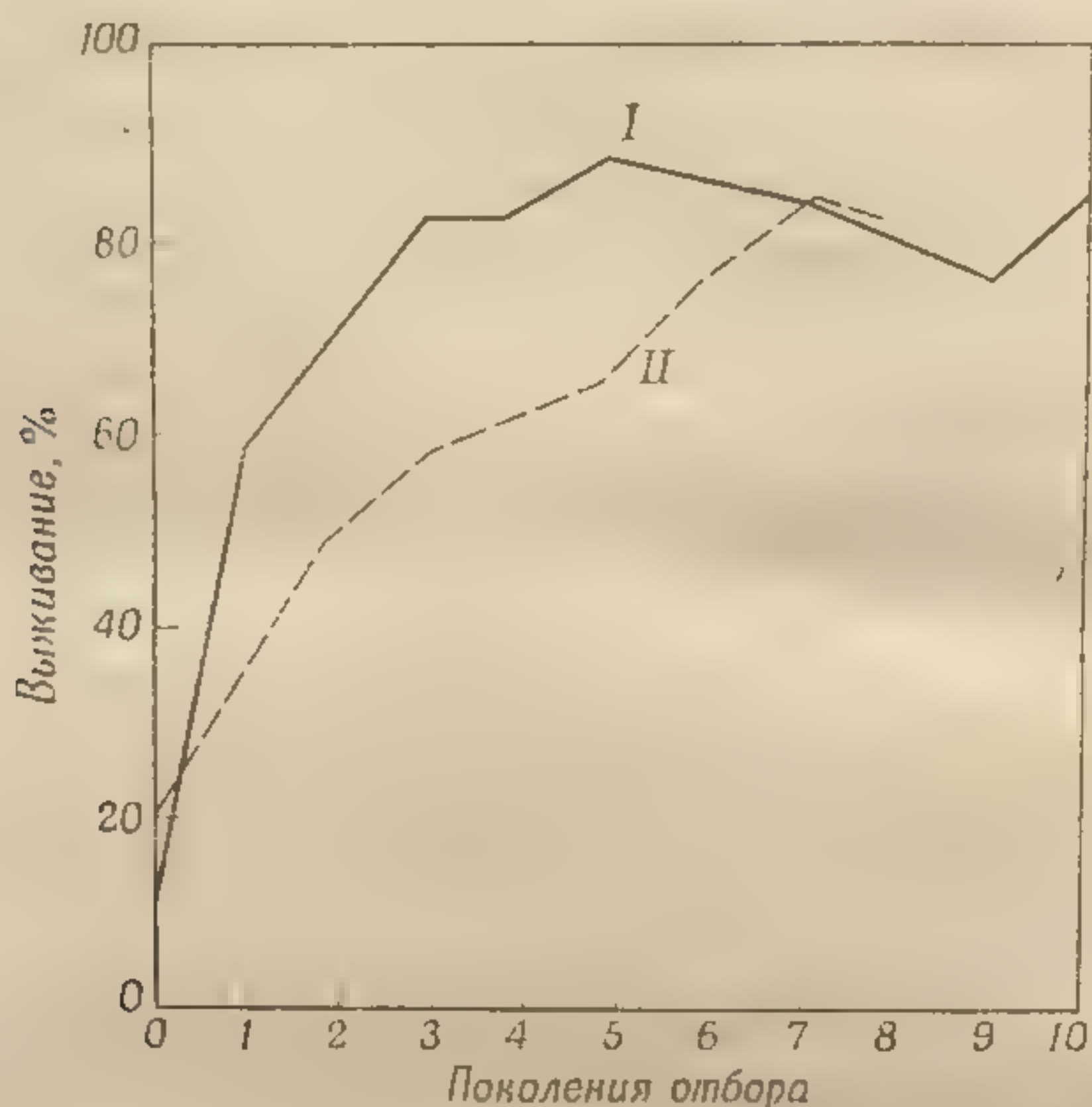
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ И ИНФЕКЦИЯ У ВЫСШИХ ОРГАНИЗМОВ

В отчетах животноводов и растениеводов имеется огромное число примеров практического изучения вопроса о наследовании устойчивости к болезням [220, 676]. Поразительные успехи в получении устойчивых штаммов были достигнуты во многих случаях, как например создание штаммов овса и пшеницы, устойчивых к ржавчине и головне. Получение подобного типа штаммов как у этих, так и у других культур имело и продолжает иметь большое экономическое значение. Вся эта область исследований находится, однако, под вредным воздействием мутаций. Организм хозяина может мутировать иногда путем одноактного изменения от устойчивости к чувствительности и обратно. То же самое справедливо и в отношении вирулентности патогенных организмов, вызывающих болезни. Однако резистентность и вирулентность являются относительными, их выражения зависят от условий среды и обычно от действия нескольких генов как у хозяина, так и у инфицирующих организмов. По этой причине происходит непрерывное изменение и порождается необходимость постоянного отбора новых штаммов хозяина для того, чтобы поддерживать неблагоприятные изменения патогенных организмов. При подходящих условиях, когда патогенный организм может быстро размножаться и давать большое потомство (что имеет место в скоплении чувствительных хозяев), одиночная мутация в одной особи может вызвать эпидемию. Эта «борьба мутантов» протекает постоянно, приводя иногда к очень большим отклонениям в популяциях.

Вообще говоря, мало что известно о генетически контролируемых физических и биохимических факторах, непосредственно участвующих в резистентности и вирулентности, но очевидно, что таких возможностей очень много. Как ясно показано исследованиями с фагом, хозяин и инфицирующий агент должны иметь соответствующую структуру для сохранения контакта друг с другом до инвазии, с тем чтобы процесс инвазии и следующее за ним увеличение популяции могли иметь место. Каждый из этих процессов сложен, зависит от особенностей путей обмена веществ и специализированных механизмов, которые были выработаны для нападения и защиты.

У животных многое известно относительно защитных механизмов, способствующих устойчивости к инфекционным заболеваниям. Сюда относятся генетически контролируемые свойства ряда систем, таких, как система, связанная с образованием антител в ответ на внедрение чужеродных белков, фагоциты, захватывающие и переваривающие внедрившиеся частицы, и биохимические системы, вырабатывающие ингибиторы против проникших организмов. Общие данные относительно этих фактов, приводящих к устойчивости

мышей и цыплят к сальмонелле под влиянием отбора генетически устойчивых хозяев, приведены Джоуеном [220] (фиг. 119). В этих опытах проводилось внутрибрюшинное введение постоянного количества бактерий с последующим инбридингом наилучших из выживших особей. Выживание при упомянутых условиях было менее 20% в первом поколении, но затем вначале обнаруживался



Фиг. 119. Развитие резистентности к видам сальмонеллы у птиц (I) и мышей (II) в результате отбора в ряде поколений [220].

Ни в одном случае выживаемость не увеличилась больше, чем это указано на кривых, т. е. 100-процентная резистентность не была достигнута даже после многих поколений отбора.

быстрый рост (в два раза и более во втором поколении) с последующим постепенным выравниванием примерно до 80—90%, как показано на фиг. 119. Тогда была увеличена доза бактерий, причем селекция дала несколько большую резистентность. Полная резистентность не была достигнута и, по-видимому, достигнута быть не может. Эта процедура, без сомнения, состояла в отборе подходящих сочетаний генов, которые уже были в родительских линиях, равно как и в отборе мутаций, появившихся у хозяев в ходе опытов. Одновременно при каждом заражении бесспорно происходил отбор бактерий-мутантов, и они, возможно, ответственны за колебания, которые имеют место после выравнивания резистентности, равно как и за отсутствие полной резистентности. Эти результаты являются типичными из многих полученных в сходных экспериментах, и почти не возникает сомнения в том, что полученное взаимодействие зависит от совместного действия многих наследственных единиц как хозяев, так и бактерий.

В других экспериментах [220], включавших инбредные линии мышей с различной чувствительностью к *Salmonella* и линиям бактерий разной степени вирулентности, были установлены дальнейшие интересные и полезные факты. В эксперимент было включено также изучение эффекта приобретенного иммунитета в разных линиях мышей. Иммунизация проводилась путем периодических инъекций бактерий, убитых нагреванием, и было установлено, что большие дозы вакцины приводят к большей резистентности. Однако было найдено также, что мертвые бактерии убивают мышей наиболее чувствительных линий. Это напоминает «убийство извне», наблюдаемое в результате воздействия на бактерий фага, теней фага или определенных синтетических полимеров (стр. 400). Может быть, здесь участвуют сходные наследственные особенности. Опыты с мышами показали также, что бактерии с низкой вирулентностью относительно неэффективны в качестве вакцинирующих и что более чувствительные линии неиммунизированных мышей остаются также наиболее чувствительными и после вакцинации. Уровень резистентности всех линий просто повышается при вакцинации (от 1 до 200 раз), но до известной степени зависит как от генотипа хозяина, так и от бактериального генотипа.

Что касается специфических деталей того, как именно наступает инфекция у высших организмов и какие именно биохимические процессы, контролируемые генами, наиболее непосредственно участвуют в этом, то данные, касающиеся этого вопроса, крайне ограничены. Много усилий было посвящено разрешению проблем, связанных с инвазией и с вопросом о том, как могут клетки или большие единицы проникать через барьеры оболочек. Многие клетки содержат некоторое количество гелеобразного мукополисахарида — гиалуроновую кислоту, которая действует как эффективный барьер по отношению к внедрению чужеродного материала. Этот полимер, который во все необязательно имеет одно и то же строение и состав в различных клетках, состоит в значительной степени из ацетилглюкозамина и глюкуроновой кислоты; химические связи преимущественно глюкозидные, а молекулярный вес, вероятно, более 500 000. При участии кислотных групп образуются нерастворимые соли с белками. Соединительная ткань содержит до некоторой степени родственное вещество — хондроитинсерную кислоту, включающую также глюкозамин и глюкуроновую кислоту. Помимо этого, гидроксильная группа в положении 6 у глюкозамина этерифицирована серной кислотой. Это вещество может иметь функцию, сходную с функцией гиалуроновой кислоты, и в самом деле, оба вещества гидролизуются некоторыми ферментными препаратами (гиалуронидазой). Многие бактерии, вызывающие инфекционные заболевания, и выделения, подобные змеиному яду или сперме, содержат некоторые количества фермента, расщепляющего гиалуроновую кислоту, — гиалуронидазу. Согласно мнению многих исследователей, этому ферменту присуща важная функция, состоящая в разложении мукополисахаридного барьера, предохраняющего ткани от инвазии чужеродными материа-

лами. Процессы бактериальных и вирусных инфекций, оплодотворения и даже инвазивности злокачественных клеток истолковывались на этой основе. В бактериях гиалуронидаза связана в неактивной форме, активируясь во время отека, сопровождающего воспаление, указывая тем самым, что фермент сам по себе не определяет всего инвазионного процесса. Этот процесс, очевидно, более сложен, чем растворение барьера глюкуроновой кислоты. Тем не менее эта система, несомненно, играет значительную роль в инфекции, и легко представить себе, как генетические изменения могут воздействовать на резистентность и инвазивность путем модификации субстрата или фермента.

НЕКОТОРЫЕ ОБЩИЕ СООБРАЖЕНИЯ

В этом по необходимости ограниченном обсуждении проблем питания и болезней в аспекте наследственности не затронут ни один действительно новый вопрос, не рассмотренный в той или иной степени в других разделах книги. Было уделено особое внимание фактору изменения во времени и важности обсуждения этих проблем по отношению к индивидуумам. Конечно, очень важно знать биохимическую природу систем, развивающихся под влиянием данного генотипа, но это может лишь служить основой для оценки возможностей изменения. Устойчивое состояние несвойственно существованию и эволюции биохимических процессов. Исходя из этих соображений, на всем протяжении книги мы неоднократно отмечали важность знания скоростей биохимических процессов *in vivo*. Однако знания всего характера обмена веществ, включая данные о мгновенных скоростях реакций, все еще недостаточны. В равной мере необходимы сведения, касающиеся относительных изменений в скоростях реакций и соответствующих им сдвигов в характере обмена веществ. Что это действительно так, подчеркивается наблюдениями по этиологии различных наследственных заболеваний, и в известном смысле все болезни наследственны, потому что генетическая конституция всегда оказывает влияние на их течение. С практической точки зрения генетическая гетерогенность является большим препятствием для полного контролирования болезни.

Одна из целей при написании этой книги заключалась в том, чтобы попытаться описать в общих чертах с помощью поясняющих примеров экспериментальные данные и установленные принципы, которые делают неразрывными области генетики и биохимии в их конечном развитии. Эти проблемы в их общей формулировке никоим образом не новы, и мы имеем лишь частичное решение большинства из них. Например, Стертевант в 1932 г. сделал следующее заявление на Международном конгрессе генетиков: «Очевидно, что в большинстве случаев между непосредственной активностью гена и конечным продуктом, с которым имеют дело генетики как с признаком, имеется цепь реакций. Можно предположить, что любое обобщение относительно этих реакций скорее должно касаться

начальных, а
звенья обычно
единственным
ного метода Я
В настоящ
янии с увере
ных», а это оч
нулись вперед
дования и пр
создают тепер
определения
несмотря на т
их в качестве
ные в виде п
что вопрос о
веществ, буде
и обмена вещ
сделано еще
сейчас разви
уделено иссл
особенно in

начальных, а не конечных звеньев цепи. Однако именно конечные звенья обычно доступны для экспериментального подхода, так как единственным показателем эффективности данного экспериментального метода является состояние конечного продукта».

В настоящее время, т. е. много лет спустя, мы все еще не в состоянии с уверенностью разграничить «начальные звенья» от «конечных», а это очень существенная проблема. Тем не менее мы продвинулись вперед. Мы имеем гораздо больше данных о механизме наследования и природе биохимических реакций. Накопленные факты создают теперь более прочную основу для более точного и детального определения проблем, предназначенных для разрешения, даже несмотря на то, что мы все еще разделяем взгляды, хотя и не имеем их в качестве установленных экспериментально фактов, высказанных в виде положения, цитированного выше. Нет причин думать, что вопрос о том, каким образом гены регулируют процесс обмена веществ, будет разрешен в ближайшем будущем. Определения гена и обмена веществ не являются полными. Следует ожидать, что будет сделано еще много усилий в различных направлениях, которые сейчас развиваются, и мы утверждаем, что особое внимание будет уделено исследованию факторов, влияющих на скорости реакций, особенно *in vivo*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Adelberg E. A., Tatum E. L., Arch. Biochem., 29, 235 (1950).
2. Adelberg E. A., Bonner D. M., Tatum E. L., J. Biol. Chem., 190, 837 (1951).
3. Арол Г., Genetics, 16, 254 (1931).
4. Alexander H. E., Leidy G., J. Exptl. Med., 93, 345 (1951).
5. Amano T., Torii M., Iritani H., Med. J. Osaka Univ., 2, 45 (1950).
6. Anderson E. H., Proc. Natl. Acad. Sci., 37, 340 (1951).
7. Anderson N. G., Science, 117, 517 (1953).
8. Ames B. N., Mitchell H. K., Mitchell M. B., J. Am. Chem. Soc., 75, 1015 (1953).
9. Atwood S. S., Sullivan J. T., J. Heredity, 34, 311 (1943).
10. Auerbach C., Hereditas, 37, 1 (1951).
11. Auerbach C., Robson J. M., Proc. Royal Soc. Edinburgh, B62, 271 (1947).
12. Auerbach C., Robson J. M., Proc. Royal Soc. Edinburgh, B62, 284 (1947).
13. Austrian R., MacLeod C. M., J. Exptl. Med., 89, 451 (1949).
14. Avery O. T., MacLeod C. M., McCarty M., J. Exptl. Med., 79, 137 (1944).
15. Bacq Z. M., Experientia, 7, 11 (1951).
16. Baker C. L., Arch. Protistenk., 80, 434 (1933).
17. Baker W. K., Genetics, 34, 167 (1949).
18. Baker W. K., Sgourakis E., Proc. Natl. Acad. Sci., 36, 176 (1950).
19. Bateson W., Mendel's Principles of Heredity, Cambridge Univ. Press (1909).
20. Barron E. S. G., cm. Radiation Biology, 1, 283, McGraw-Hill, New York (1954).
21. Barth L. G., Sze L. C., Exptl. Cell Research, 2, 608 (1951).
22. Bauer H., Chromosoma, 1, 343 (1939).
23. Bauer H., Chromosoma, 2, 407 (1942).
24. Baur E., Z. ind. Ab.-Vererbungs., 1, 330 (1909).
25. Beadle G. W., J. Biol. Chem., 156, 683 (1944).
26. Beadle G. W., Chem. Revs., 37, 15 (1945).
27. Beadle G. W., Genetics in the 20th Century (edited by Dunn L. C.), p. 221. The Macmillan Co., New York (1951).
28. Beadle G. W., Coonrad V. L., Genetics, 29, 291 (1944).
29. Beadle G. W., Ephrussi B., Proc. Natl. Acad. Sci., 22, 536 (1936).
30. Beadle G. W., Ephrussi B., Genetics, 22, 76 (1937).
31. Beadle G. W., Tatum E. L., Am. Naturalist, 75, 107 (1941).
32. Beadle G. W., Tatum E. L., Proc. Natl. Acad. Sci., 27, 499 (1941).
33. Beadle G. W., Tatum E. L., Am. J. Botany, 32, 678 (1945).
34. Beadle G. W., Anderson R. L., Maxwell J., Proc. Natl. Acad. Sci., 24, 80 (1938).
35. Beadle G. W., Mitchell H. K., Nyc J. F., Proc. Natl. Acad. Sci., 33, 155 (1947).
36. Beadle G. W., Tatum E. L., Clancy C. W., Biol. Bull., 75, 447 (1938).
37. Beale G. H., Genetics, 37, 62 (1952).
38. Beale G. H., Price J. R., Scott-Moncrieff R., J. Genet., 41, 65 (1940).
39. Beale G. H., Price J. R., Sturgess V. C., Proc. Roy. Soc., B, 130, 113 (1941).
40. Beale G. H., Robinson G. M., Robinson R., Scott-Moncrieff R., J. Genet., 37, 375 (1939).

41. Becke
42. Benec
43. Bergn
44. Bernh
(193
45. Billing
46. Birkar
47. Blake
48. Boivin
49. Boivin
50. Bonne
51. Bonne
52. Bonne
53. Bonne
54. Bonne
55. Bonne
56. Bonne
57. Bonne
25 (1
58. Borei
59. Borsoc
60. Borsoc
61. Borsoc
62. Borsoc
J. Bi
63. Borsoc
J. Bi
64. Borsoc
J. Bi
65. Boveri
66. Boveri
67. Brache
68. Brache
69. Brache
70. Brache
71. Bridge
72. Bridge
73. Bridge
Secre
74. Bridge
75. Briggs
76. Briles
77. Brown
78. Bryan
79. Buchm
130 (
80. Buchm
335 (
81. Burdet
82. Butena
83. Butena
84. Buxton
85. Caldec
86. Calvin
87. Camero
88. Camero
89. Cardini
(1950)
90. Carlson

41. Becker E., Z. ind. Ab.-Vererbungsl., 80, 157 (1942).
42. Benedict S. R., J. Lab. Clin. Med., 2, 1 (1916).
43. Bergmann E. D., Ben-Ishai R., Volcani B. E., J. Biol. Chem., 194, 531 (1952).
44. Bernheim F., Bernheim M. L. C., J. Pharmacol. Exptl. Therap., 64, 20 (1938).
45. Billingham R. E., Medawar P. B., Heredity, 4, 141 (1950).
46. Birkana B. N., Biol. Zhur., 7, 653 (1938).
47. Blakeslee A. F., J. Hered., 25, 81 (1934).
48. Boivin A., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 12, 7 (1947).
49. Boivin A., Vendrely R., Vendrely C., Compt. rend., 226, 1061 (1948).
50. Bonner D., J. Biol. Chem., 166, 545 (1946).
51. Bonner D., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 11, 14 (1946).
52. Bonner D., Am. J. Botany, 33, 788 (1946).
53. Bonner D., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 283 (1951).
54. Bonner D., Yanofsky C., Proc. Natl. Acad. Sci., 35, 576 (1949).
55. Bonner D., Wasserman E., J. Biol. Chem., 185, 69 (1950).
56. Bonner D., Tatum E. L., Beadle G. W., Arch. Biochem., 3, 71 (1943).
57. Bonner D., Yanofsky C., Partridge C. W. H., Proc. Natl. Acad. Sci., 38, 25 (1952).
58. Borei H., Biol. Bull., 95, 124 (1948).
59. Borsook H., Keighley G. L., Proc. Roy. Soc., B, 118, 488 (1935).
60. Borsook H., Deasy C. L., Ann. Rev. Biochem., 20, 209 (1951).
61. Borsook H., Deasy C. L., Haagen-Smit A. J., Keighley G., Lowy P. H. J. Biol. Chem., 173, 423 (1948).
62. Borsook H., Deasy C. L., Haagen-Smit A. J., Keighley G., Lowy P. H. J. Biol. Chem., 179, 705 (1949).
63. Borsook H., Deasy C. L., Haagen-Smit A. J., Keighley G., Lowy P. H. J. Biol. Chem., 184, 529 (1950).
64. Borsook H., Deasy C. L., Haagen-Smit A. J., Keighley G., Lowy P. H. J. Biol. Chem., 187, 839 (1950).
65. Boveri T., Verhandl. Physiol. Med. Ges. Wurzburg, N. F., 34, 145 (1901).
66. Boveri T., Festschrift R. Hertwig, 3, 131 (1910).
67. Brachet J., Chemical Embryology, Interscience, New York (1950).
68. Brachet J., Experientia, 6, 56 (1950).
69. Brachet J., Ann. N. Y. Acad. Sci., 50, 861 (1950).
70. Brachet J., Soc. Exptl. Biol. Symposia, 6, 173 (1952).
71. Bridges C. B., J. Heredity, 26, 60 (1935).
72. Bridges C. B., Science, 83, 210 (1936).
73. Bridges C. B., Cytological and Genetic Basis of Sex, cm. Sex and Internal Secretions, 2nd ed., Chapter 2, 15, Williams and Wilkins, Baltimore (1939).
74. Bridges C. B., Brehme K. S., Carnegie Inst. Publ., 552 (1944).
75. Briggs R. E., King T. J., Growth Symposium, Princeton Univ. Press (1953).
76. Briles W. E., McGibbon W. H., Irwin M. R., Genetics, 35, 633 (1950).
77. Brown G. B., Ann. Rev. Biochem., 22, 141 (1953).
78. Bryan C. R., Miller W. J., Proc. Natl. Acad. Sci., 39, 412 (1953).
79. Buchmann W., Timofeeff-Ressovsky N. W., Z. ind. Ab.-Vererbungsl., 70, 130 (1935).
80. Buchmann W., Timofeeff-Ressovsky N. W., Z. ind. Ab.-Vererbungsl., 71, 335 (1936).
81. Burdette W. J., Univ. Texas Publ., 4032, 157 (1940).
82. Butenandt A., Hallman G., Z. Naturforsch., 5b, 445 (1950).
83. Butenandt A., Weidel W., Schlossberger H., Z. Naturforsch., 4b, 242 (1949).
84. Buxton B. H., J. Genetics, 25, 195 (1932).
85. Caldecott R. S., Smith L., Genetics, 37, 136 (1952).
86. Calvin M., Benson A. A., Science, 109, 140 (1949).
87. Cameron J. W., Genetics, 32, 459 (1947).
88. Cameron J. W., Teas H. J., Proc. Natl. Acad. Sci., 34, 390 (1948).
89. Cardini C. E., Paladini A. C., Caputto P. R., Leloir L. F., Nature, 165, 191 (1950).
90. Carlson J. G., Proc. Natl. Acad. Sci., 27, 42 (1941).

91. Cartledge J. L., Murray M. J., Blakeslee A. F., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 21, 597 (1935).
92. Caspari E., *Quart. Rev. Biol.*, 24, 185 (1949).
93. Caspari E., Dalton H. C., *Carnegie Inst. Wash. Year Book*, 48, 188 (1946).
94. Caspersson T., Schultz J., *Genetics in the 20th Century* (Ed. L. C. Dunn), The Macmillan Co., New York (1951).
95. Castle W. E., *Genetics*, 33, 22 (1948).
96. Castle W. E., *Genetics*, 39, 35 (1954).
97. Catcheside D. G., *J. Genet.*, 48, 31 (1947).
98. Catcheside D. G., *J. Genet.*, 48, 99 (1947).
99. Catcheside D. G., *Advances in Genetics*, 2, 271 (1948).
100. Catcheside D. G., Lea D. E., *J. Genet.*, 47, 25 (1945).
101. Catsch A., *Z. ind. Ab.-Vererbungs.*, 82, 155 (1948).
102. Chance B., *Nature*, 161, 914 (1948).
103. Chance B., *Arch. Biochem.*, 22, 224 (1949).
104. Chapman S., *Growth*, 1, 299 (1937).
105. Chargaff E., *J. Cell. Comp. Physiol.*, 38, Suppl. 1, 41 (1951).
106. Child C. M., *Problems and Patterns of Development*, Univ. of Chicago Press (1941).
107. Claude A., *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 9, 263 (1941).
108. Claude A., *J. Exptl. Med.*, 84, 51 (1946).
109. Claude A., *Advances in Protein Chem.*, 5, 423 (1949).
110. Clausen R. E., Cameron D. R., *Genetics*, 35, 4 (1950).
111. Clayton F., *Univ. Texas Publ.*, 5422, 189 (1954).
112. Cohen P. P., *J. Biol. Chem.*, 119, 333 (1937).
113. Cohn M., Torriani A. M., *Biochim. et Biophys. Acta*, 10, 280 (1953).
114. Conger A. D., Giles N. H., *Genetics*, 35, 397 (1950).
115. Coop I. E., *New Zealand J. Sci. Technol.*, 22, 71B (1940).
116. Corkill L., *New Zealand J. Sci. Technol.*, 23, 178B (1942).
117. Correns C., *Z. ind. Ab.-Vererbungs.*, 1, 291 (1909).
118. Costello D. P., *J. Elisha Mitchell Sci. Soc.*, 61, 277 (1945).
119. Cross R. J., Taggard J. V., Covo G. A., Green D. E., *J. Biol. Chem.*, 177, 655 (1949).
120. Crow J. F., *Am. Naturalist*, 80, 663 (1946).
121. Crow J. F., *Genetics*, 33, 477 (1948).
122. Crow J. F., *cm. Heterosis*, Iowa State College Press, Ames, Iowa (1952).
123. Cumley R. W., Irwin M. R., *Genetics*, 27, 177 (1942).
124. Dalcq A., *L'oeuf et son dynamisme organisateur*, Albin Michel, Paris (1941).
125. Dalglish C. E., *Quart. Revs. (London)*, 5, 227 (1951).
126. Dalton H. C., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 35, 277 (1949).
127. Daly M. M., Mirsky A. E., Ris H., *J. Gen. Physiol.*, 34, 439 (1951).
128. D'Amato F., Gustafsson A., *Hereditas*, 34, 181 (1948).
129. Danneel R., *Ergeb. Biol.*, 18, 55 (1941).
130. David P. R., *Arch. Entwicklungsmech.*, 135, 521 (1936).
131. Davis B. D., *Experientia*, 6, 41 (1950).
132. Davis B. D., *J. Bacteriol.*, 64, 749 (1952).
133. Davis B. D., *Proc. Sixth International Congress of Microbiology* (1953).
134. De la Haba G., *Science*, 112, 203 (1950).
135. Demerec M., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 18, 430 (1932).
136. Demerec M., *Genetics*, 22, 469 (1937).
137. Demerec M., Cohn E., *J. Bacteriol.*, 65, 27 (1953).
138. De Winton D., Haldane J. B. S., *J. Genet.*, 27, 1 (1933).
139. Dickens F., *cm. Sumner J. B., Myrback K., The Enzymes*, p. 624, Academic Press, New York (1951).
140. Dienert F., *Ann. Inst. Pasteur*, 14, 139 (1901).
141. Diller W. F., *J. Morphol.*, 59, 11 (1936).
142. Dippell R. V., *Heredity*, 4, 165 (1950).
143. Dobzhansky Th., *Genetics and the Origin of Species*, 3rd Ed., Columbia Univ. Press, New York (1951).
144. Dobzhansky Th., Schultz J., *J. Genet.*, 28, 349 (1934).

145. Doermann A. F.
146. Doudney C. O.
147. Doudney C. O.
148. Doudoroff M., *J. Biol. Chem.*
149. Doudoroff M., *J. Biol. Chem.*
150. Dounce A. L.
151. Dubes G. S., *J. Biol. Chem.*
152. Дубинин Н. П.
153. Dubnoff J., *Symposia*
154. DuBuy H. G., *Glass*
155. East E. M., *Glass*
156. Eberhardt K., *Glass*
157. Ebert J. D., *Glass*
158. Elson L. A., *Glass*
159. Emerson R. A.
160. Emerson R. A., *Mem.*, 180, 1
161. Emerson S., *Am. Naturalist*
162. Emerson S., *J. Biol. Chem.*
163. Emerson S., *P. Natl. Acad. Sci.*
164. Emerson S., *C. R. Acad. Sci. Paris*
165. Emerson S., *J. Biol. Chem.*
166. Emerson S., *cm. Heterosis*
167. Emmens C. W.
168. Ephrussi B., *Glass*
169. Ephrussi B., *The Macmillan*
170. Ephrussi B., *Clarendon Press*
171. Ephrussi B., *Heredity*
172. Ephrussi B., *Heredity*, 16, 75 (1951)
173. Ephrussi-Taylor, *Heredity* (1951).
174. Eyster H. C.
175. Fabergé A. C.
176. Fano U., *Quart. Revs.*
177. Foure-Frémiet
178. Fincham J. R.
179. Fincham J. R.
180. Fischer R. A.
181. Fling M., *Hor*
182. Foster R. J.
183. Foster R. J.
184. Fox A. S., *W*
185. Friedman M.
186. Fries N., *Nat*
187. Fries N., *Her*
188. Fries N., *Kih*
189. Fries N., *Berg*
190. Fuller R. C.
191. Furst S. S., *R*
192. Garrod A. E., *Oxford, Engl*
193. Geissman T.
194. Gibson Q. H.
195. Giles N. H.
196. Giles N. H.

145. Doermann A. H., Arch. Biochem., 5, 373 (1944).
146. Doudney C. O., Wagner R. P., Proc. Natl. Acad. Sci., 38, 196 (1952).
147. Doudney C. O., Wagner R. P., Proc. Natl. Acad. Sci., 39, 1043 (1953).
148. Doudoroff M., Barker H. A., Hassid W. Z., J. Biol. Chem., 168, 725 (1947).
149. Doudoroff M., Hassid W. Z., Putnam E. W., Potter A. L., Lederberg J. J. Biol. Chem., 179, 921 (1949).
150. Dounce A. L., Ann. N. Y. Acad. Sci., 50, 982 (1950).
151. Dubes G. S., Doctoral Thesis, Calif. Inst. of Tech. (1953).
152. Дубинин Н. П., Сидоров Б. Н., Биол. журн., 4, 555 (1935).
153. Dubnoff J., Symposium on Amino Acid Metabolism, edited by W. D. McElroy, Glass B., Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, Md. (1955).
154. DuBuy H. G., Woods M. W., Lackey M. D., Science, 111, 572 (1950).
155. East E. M., Genetics, 20, 443 (1935).
156. Eberhardt K., Chromosoma, 1, 317 (1939).
157. Ebert J. D., Ann. N. Y. Acad. Sci., 55, 67 (1952).
158. Elson L. A., Heredity, 4, 271 (1950).
159. Emerson R. A., Cornell Univ. Agr. Exptl. Sta. Mem., 39, 1 (1921).
160. Emerson R. A., Beadle G. W., Fraser A. C., Cornell Univ. Agr. Expt. Sta. Mem., 180, 1 (1935).
161. Emerson S., Ann. Missouri Botan. Garden, 32, 243 (1945).
162. Emerson S., J. Bacteriol., 54, 195 (1947).
163. Emerson S., Proc. Natl. Acad. Sci., 34, 72 (1948).
164. Emerson S., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 14, 40 (1949).
165. Emerson S., J. Bacteriol., 60, 30 (1950).
166. Emerson S., cm. Heterosis, Iowa State College Press, Ames, Iowa (1952).
167. Emmens C. W., J. Genet., 34, 191 (1937).
168. Ephrussi B., Quart. Rev. Biol., 17, 327 (1942).
169. Ephrussi B., Genetics in the 20th Century (edited by Dunn L. C.), p. 241 The Macmillan Co., New York (1951).
170. Ephrussi B., Nucleo-cytoplasmic Relations in Microorganisms, Oxford Clarendon Press (1953).
171. Ephrussi B., Herold J. L., Genetics, 30, 62 (1945).
172. Ephrussi B., Hottinguer H., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 75 (1951).
173. Ephrussi-Taylor H., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 445 (1951).
174. Eyster H. C., Plant Physiol., 25, 630 (1950).
175. Fabergé A. C., Beale G. H., J. Genet., 43, 173 (1942).
176. Fano U., Quart. Rev. Biol., 17, 244 (1942).
177. Foure-Frémiet E., Anat. Anz., 36, 186 (1910).
178. Fincham J. R. S., J. Biol. Chem., 182, 61 (1950).
179. Fincham J. R. S., J. Gen. Microbiol., 5, 793 (1951).
180. Fischer R. A., Biol. Revs., 6, 345 (1931).
181. Fling M., Horowitz N. H., J. Biol. Chem., 190, 277 (1951).
182. Foster R. J., Niemann C., J. Am. Chem. Soc., 73, 1552 (1951).
183. Foster R. J., Niemann C., Proc. Natl. Acad. Sci., 39, 371 (1953).
184. Fox A. S., White T. B., Genetics, 38, 152 (1953).
185. Fox A. S., White T. B., Genetics, 38, 152 (1953).
186. Friedman M., Byers S. O., J. Biol. Chem., 175, 727 (1948).
187. Fries N., Nature, 159, 199 (1947).
188. Fries N., Hereditas, 36, 368 (1950).
189. Fries N., Kihlman B., Nature, 162, 573 (1948).
190. Fries N., Bergstrom S., Rottenberg M., Physiol. Plantarum, 2, 210 (1949).
191. Fuller R. C., Barratt R. W., Tatum E. L., J. Biol. Chem., 186, 823 (1950).
192. Furst S. S., Roll P. M., Brown G. B., J. Biol. Chem., 183, 251 (1950).
193. Garrod A. E., Inborn Errors in Metabolism, 2nd Ed., Oxford Univ. Press, Oxford, England (1923).
194. Geissman T. A., Mehlquist G. A. L., Genetics, 32, 410 (1947).
195. Gibson Q. H., Biochem. J., 42, 13 (1948).
196. Giles N. H., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 283 (1951).
197. Giles N. H., Lederberg E. Z., Am. J. Botany, 35, 150 (1948).

197. Giles N. H., Partridge C. W. H., Proc. Natl. Acad. Sci., 39, 479 (1953).
198. Giles N. H., Riley H. P., Proc. Natl. Acad. Sci., 35, 640 (1949).
199. Ginsburg B., Genetics, 29, 176 (1944).
200. Glick D., Glaubach S., J. Gen. Physiol., 25, 197 (1941).
201. Gloor H., Rev. suisse zool., 56, 281 (1949).
202. Gluecksohn-Schoenheimer S., Genetics, 30, 29 (1945).
203. Gluecksohn-Schoenheimer S., Growth, 9, 163 (1949).
204. Gluecksohn-Waelsch S., Advances in Genet., 4, 2 (1951).
205. Goldschmidt R., Die quantitative Grundlagen von Vererbung und Artbildung, Springer, Berlin (1920).
206. Goldschmidt R., Bibliog. Gen., 11, 1 (1934).
207. Goldschmidt R., Univ. Calif. Berkeley Publ. Zool., 41, 277 (1937).
208. Goldschmidt R., Physiological Genetics, McGraw-Hill Book, Co., New York (1938).
209. Goldschmidt R., Publ. Am. Assoc. Advance Sci., No 14, 56 (1939).
210. Goldschmidt R., Experientia, 2, 1 (1946).
211. Goldschmidt R., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 1 (1951).
212. Goldstein A., J. Gen. Physiol., 27, 529 (1944).
213. Good N., Doctoral Thesis, Calif. Inst. Tech. (1951).
214. Good N., Heilbronner R., Mitchell H. K., Arch. Biochem., 28, 464 (1950).
215. Goodspeed T. H., Avery P., J. Genet., 38, 381 (1939).
216. Goodwin T. W., Sprisukh S., Biochem. J., 47, 549 (1950).
217. Gordon M., Haskins F. A., Mitchell H. K., Proc. Natl. Acad. Sci., 36, 427 (1950).
218. Gowdrige B., личное сообщение (1954).
219. Gowen J. W., Anat. Record, 94, 348 (1946).
220. Gowen J. W., Genetics in the 20th Century, p. 401 (edited by Dunn L. C.), The Macmillan Co., New York (1951).
221. Gowen J. W., Gay E. H., Science, 77, 312 (1933).
222. Granick S., J. Biol. Chem., 183, 713 (1950).
223. Gray C. H., Tatum E. L., Proc. Natl. Acad. Sci., 30, 404 (1944).
224. Gray L. H., J. Cellular Comp. Physiol., 39, Suppl. 1, 57 (1952).
225. Green D. E., Loomis W. F., Auerbach V. H., J. Biol. Chem., 172, 389 (1948).
226. Green M. M., Genetics, 31, 1 (1946).
227. Green M. M., Genetics, 34, 564 (1949).
228. Green M. M., Proc. Natl. Acad. Sci., 38, 300 (1952).
229. Green M. M., Proc. Natl. Acad. Sci., 40, 92 (1954).
230. Green M. M., Green K. C., Proc. Natl. Acad. Sci., 35, 586 (1949).
231. Griffen A. B., Stone W. S., Univ. Texas Publ., No 4032, 190 (1940).
232. Griffith F., J. Hyg., 27, 113 (1928).
233. Gross O., Biochem. Z., 61, 165 (1914).
234. Grüneberg H., J. Genet., 34, 169 (1937).
235. Grüneberg H., Nature, 140, 932 (1937).
236. Grüneberg H., Proc. Roy. Soc., B, 125, 123 (1938).
237. Grüneberg H., J. Genet., 45, 22 (1943).
238. Grüneberg H., Animal Genetics and Medicine, Paul R. Hoeber, New York (1947).
239. Grüneberg H., The Genetics of the Mouse, 2nd Ed., Martinus Nyhoffs' Bockhandel en Vitgevers Maaty, The Hague, Netherlands (1952).
240. Gustafson T., Hasselberg I., Exptl. Cell Research, 2, 642 (1951).
241. Gustafson T., Lenicque P., Exptl. Cell Research, 3, 251 (1952).
242. Haas F., Mitchell M. B., Ames B. N., Mitchell H. K., Genetics, 37, 217 (1952).
243. Haas F., Dudgeon E., Clayton F. E., Stone W. S., Genetics, 39, 453 (1954).
244. Hadorn E., Rev. suisse zool., 57, 115 (1950).
245. Hadorn E., Advances in Genet., 4, 53 (1951).
246. Hadorn E., см. Proc. Intern. Congr. Genet., 9th Congr. (1953).
247. Hadorn E., Mitchell H. K., Proc. Natl. Acad. Sci., 37, 650 (1951).
248. Hagiwara T., Proc. Imp. Acad. (Tokyo), 8, 54 (1932).
249. Haldane J. B. S., Biol. Revs., 2, 199 (1927).
250. Haldane J. B. S., Am. Naturalist, 64, 87 (1930).

251. Haldane (1942).
252. Haldane J.
253. Haldane J. London (
254. Hamburger
255. Hammarst
256. Harnly M.
257. Harnly M.
258. Harnly M.
259. Harris H.,
260. Harrold C.
261. Harvey E.
262. Haskins F.
263. Haskins F.
264. Haskins F. 200, 819
265. Havinga E.
266. Haxo F.,
267. Heatley N.
268. Heatley N.
269. Heidenthal
270. Henderson
271. Herbst C.,
272. Hersh A. H.
273. Hershey A.
274. Hershey A.
275. Herskowitz
276. Hertwig O.
277. Hevesy G.,
278. Hinshelwood
279. Hinton T.,
280. Hirsch H.
281. Hogan A.
282. Hogeboom
283. Hogeboom (1948).
284. Hogness D. симпозиум биол., Cambridge микропра
285. Hogness D.
286. Hollaender 9, 179 (19
287. Holtfreter
288. Horowitz
289. Horowitz
290. Horowitz
291. Horowitz
292. Horowitz
293. Horowitz
294. Horowitz 16, 65 (19
295. Horowitz
296. Horowitz
297. Horowitz
298. Horowitz
299. Am. Natur
300. Horstadius S.

251. Haldane J. B. S., New Paths in Genetics, Harper and Bros., New York (1942).
252. Haldane J. B. S., Proc. Intern. Congr. Genet., 8th Congr., 267 (1949).
253. Haldane J. B. S., The Biochemistry of Genetics, George Allen and Unwin, London (1954).
254. Hamburger V., Biol. Symposia, 6, 311 (1942).
255. Hammarsten E., Hevesy G., Acta Physiol. Scand., 11, 335 (1946).
256. Harnly M. H., Genetics, 21, 84 (1936).
257. Harnly M. H., Biol. Bull., 82, 215 (1942).
258. Harnly M. H., Harnly M. L., J. Exptl. Zool., 74, 41 (1936).
259. Harris H., Eugenics Lab. Mem. 37, Cambridge Univ. Press (1953).
260. Harrold C. E., Fling M., J. Biol. Chem., 194, 399 (1952).
261. Harvey E. B., Ann. N. Y. Acad. Sci., 51, 1336 (1951).
262. Haskins F. A., Mitchell H. K., Proc. Natl. Acad. Sci., 35, 500 (1949).
263. Haskins F. A., Mitchell H. K., Am. Naturalist, 86, 231 (1952).
264. Haskins F. A., Tissieres A., Mitchell H. K., Mitchell M. B., J. Biol. Chem., 200, 819 (1953).
265. Havinga E., Itano H. A., Proc. Natl. Acad. Sci., 39, 65 (1952).
266. Haxo F., Arch. Biochem. and Biophys., 28, 450 (1949).
267. Heatley N. G., Biochem. J., 29, 2564 (1935).
268. Heatley N. G., Lindahl P. E., Proc. Roy. Soc., B, 122, 395 (1937).
269. Heidenthal G., Genetics, 25, 197 (1940).
270. Henderson L. M., J. Biol. Chem., 181, 677 (1949).
271. Herbst C., Z. wiss. Zoöl., 55, 446 (1892).
272. Hersh A. H., J. Exptl. Zool., 57, 283 (1930).
273. Hershey A. D., Advances in Genet., 5, 89 (1953).
274. Hershey A. D., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 18, 135 (1953).
275. Herskowitz I. H., Science, 112, 302 (1950).
276. Hertwig O., Arch. mikroskop. Anat., 42, 662 (1893).
277. Hevesy G., Radioactive Indicators, Interscience, New York (1948).
278. Hinshelwood C. N., Lewis P. R., Proc. Roy. Soc., B, 135, 316 (1948).
279. Hinton T., Ellis J., Noyes D. T., Proc. Natl. Acad. Sci., 37, 293 (1951).
280. Hirsch H. M., Biochim. et Biophys. Acta, 9, 674 (1952).
281. Hogan A. G., Ann. Rev. Biochem., 22, 299 (1953).
282. Hogeboom G. H., Schneider W. C., Science, 113, 355 (1951).
283. Hogeboom G. H., Schneider W. C., Pallade G. E., J. Biol. Chem., 172, 619 (1948).
284. Hogness D., См. дискуссию к докладу Шпигельмана и Халворсона в симпозиуме Adaptations in Microorganisms, Third Symp. Soc. Gen. Microbiol., Cambridge Univ. Press (1953) (русский перевод, Адаптация у микроорганизмов, Москва, ИЛ, 1956).
285. Hogness D., Mitchell H. K., J. Gen. Microbiol., 11, 401 (1954).
286. Hollaender A., Emmens C. W., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 9, 179 (1941).
287. Holtfreter J., Arch. exptl. Zellforsch. Gewebezucht., 23, 169 (1939).
288. Horowitz N. H., J. Biol. Chem., 162, 413 (1946).
289. Horowitz N. H., J. Biol. Chem., 171, 255 (1947).
290. Horowitz N. H., Advances in Genet., 3, 33 (1950).
291. Horowitz N. H., Beadle G. W., J. Biol. Chem., 150, 325 (1943).
292. Horowitz N. H., Fling M., Genetics, 38, 360 (1953).
293. Horowitz N. H., Leupold U., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 65 (1951).
294. Horowitz N. H., Mitchell H. K., Ann. Rev. Biochem., 20, 465 (1951).
295. Horowitz N. H., Owen R. D., Ann. Rev. Physiol., 16, 81 (1954).
296. Horowitz N. H., Sheng S. C., J. Biol. Chem., 197, 513 (1952).
297. Horowitz N. H., Bonner D., Houlahan M. B., J. Biol. Chem., 159, 145 (1945).
298. Horowitz N. H., Bonner D., Mitchell H. K., Tatum E. L., Beadle G. W., Am. Naturalist, 79, 304 (1945).
299. Horstadius S., Biol. Revs., 14, 132 (1939).
300. Horstadius S., Gustafson T., Symposia Soc. Exptl. Biol., 2, 50 (1948).

301. Hotchkiss R. D., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 457 (1951).
302. Houlahan M. B., Mitchell H. K., Proc. Natl. Acad. Sci., 33, 223 (1947).
303. Houlahan M. B., Mitchell H. K., Arch. Biochem., 19, 257 (1948).
304. Houlahan M. B., Mitchell H. K., Proc. Natl. Acad. Sci., 34, 465 (1948).
305. Houlahan M. B., Beadle G. W., Calhoun G., Genetics, 34, 493 (1949).
306. Hsu T. C., Pomerat C. M., J. Morphol., 93, 301 (1953).
307. Hungate F. P., Doctoral Thesis, Stanford University (1946).
308. Huskins C. L., J. Hered., 39, 311 (1948).
309. Hutt F. B., Genetics of the Fowl, McGraw-Hill Book Co., New York (1949).
310. Isbell E. R., Mitchell H. K., Taylor A., Williams R. J., Univ. Texas Publ., No 4327, 81 (1942).
311. Itano H. A., Science, 117, 89 (1953).
312. Ives P. T., Evolution, 4, 236 (1950).
313. Jacobsen C. F., Compt. rend. trav. lab. Carlsberg, Ser. chim., 25, 325 (1947).
314. Jaeger L., Barth L. G., J. Cellular Comp. Physiol., 32, 319 (1948).
315. Jenkins J. A., Mackinney G., Genetics, 38, 107 (1953).
316. Jensen K. A., Kirk I., Kolmark G., Westergaard M., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 245 (1951).
317. Johannsen W., Am. Naturalist, 45, 129 (1911).
318. Johnson M. J., Respiratory Enzymes, p. 255 (edited by Lardy H. J.), Burgess Publ. Co., Minneapolis, Minnesota (1950).
319. Johnson O., Winchester A. M., Am. Naturalist, 68, 351 (1934).
320. Kaplan R. W., Z. ind. Ab.-Vererbungsl., 83, 347 (1951).
321. Karrer P., Jucker E., Carotenoids, Elsevier Publishing Co., New York (1950).
322. Kaufmann B. P., Am. Naturalist, 81, 77 (1947).
323. Kaufmann B. P., Gay H., McDonald M. R., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 14, 85 (1950).
324. Kaufmann B. P., McDonald M. R., Gay H., Nature, 162, 814 (1948).
325. Kavanau J. L., J. Exptl. Zool., 122, 285 (1953).
326. Kikkawa H., Genetics, 26, 587 (1941).
327. Kikkawa H., Advances in Genet., 5, 107 (1953).
328. King E. D., Genetics, 32, 161 (1947).
329. King E. D., Schneiderman H. A., Sax K., Proc. Natl. Acad. Sci., 38, 34 (1952).
330. Knox W. E., Mehler A. H., J. Biol. Chem., 187, 419 (1950).
331. Knox W. E., Mehler A. H., Science, 113, 237 (1951).
332. Koller P. C., Heredity, 4, 272 (1950).
333. Kolmark G., Westergaard M., Hereditas, 35, 490 (1949).
334. Kotval J. P., Gray L. H., J. Genet., 48, 135 (1947).
335. Krebs H. A., Henseleit K., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., 210, 33 (1932).
336. Laidler K. J., Arch. Biochem. and Biophys., 30, 226 (1951).
337. Lamy R., J. Genet., 48, 223 (1947).
338. Landauer W., Genetics, 30, 403 (1945).
339. Landauer W., J. Genet., 30, 303 (1935).
340. Landauer W., Growth Symp., 12, 171 (1948).
341. Landsteiner K., Zentr. Bakteriolog. Parasitol., 27, 357 (1900).
342. Landsteiner K., Wien. klin. Wchschr., 14, 1132 (1901).
343. Landsteiner K., The Specificity of Serological Reactions, Harvard Univ. Press, Cambridge, Revised 2nd ed. (1947).
344. Landsteiner K., Levine P., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., N. F., 24, 941 (1927).
345. Lardy H. J., Respiratory Enzymes, Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minnesota (1950).
346. Laughnan J. R., Genetics, 33, 488 (1948).
347. Laughnan J. R., Proc. Natl. Acad. Sci., 36, 312 (1950).
348. Laughnan J. R., Genetics, 37, 375 (1952).
349. Lawrence W. J. C., Biochem. Soc. Symposia (Cambridge, Eng.), No 4, 3 (1950).
350. Lawrence W. J. C., Price J. R., Biol. Revs., 15, 35 (1940).
351. Lawrence W. J. C., Scott-Moncrieff R., J. Genet., 30, 155 (1935).
352. Lawrence W. J. C., Scott-Moncrieff R., Sturgess V. C., J. Genet., 38, 299 (1939).

353. Lea D. I. (1947).
354. Lea D. I.
355. Lebedeff
356. Lederberg
357. Lenninger
358. Leifer E. 589 (1948).
359. Lein J.
360. Lein J.
361. Lein J.
362. Lein J. (1948).
363. Leloir L.
364. Leloir L.
365. Lerche W.
366. Levine R.
367. Lewis D.
368. Lewis D.
369. Lewis E.
370. Lewis E.
371. Lewis E.
372. Lewis E.
373. Lewis E.
374. Lewis R.
375. Lewitsky
376. L'Heritier
377. Lincoln H.
378. Lindahl F.
379. Lindegrer
Publishe
380. Lindegrer
381. Lindstrom
382. Little C.
millan C.
383. Luce W. 62, 555
384. Luria S.
385. Luria S.
386. Lwoff A.
York
387. Lwoff
388. McCarr
389. McClir
390. McClir
391. McClir
392. McElro
393. McElro
394. McGibb
395. McCibb
396. Mackinne
397. Mackinne
398. Maas W.
399. Malone R.
400. Mampell
401. Mandelsta
402. Mangelsdo
403. Mangelsdo
404. Markert C.
405. Markham

353. Lea D. E., Actions of Radiations on Living Cells, Cambridge Univ. Press (1947).
354. Lea D. E., Catcheside D. G., J. Genet., 44, 216 (1942).
355. Lebedeff G. A., Genetics, 24, 553 (1939).
356. Lederberg J., Genetics, 32, 505 (1947).
357. Lenninger A. L., Kennedy E. P., J. Biol. Chem., 173, 753 (1948).
358. Leifer E., Langham W. H., Nyc J. F., Mitchell H. K., J. Biol. Chem., 184, 589 (1950).
359. Lein J., Lein P. S., J. Bact., 58, 595 (1949).
360. Lein J., Lein P. S., J. Bact., 60, 185 (1950).
361. Lein J., Lein P. S., Proc. Natl. Acad. Sci., 38, 44 (1952).
362. Lein J., Mitchell H. K., Houlahan M. B., Proc. Natl. Acad. Sci., 34, 435 (1948).
363. Leloir L. F., Cardini C. E., Ann. Rev. Biochem., 22, 179 (1953).
364. Leloir L. F., Munoz M., Biochem. J., 33, 734 (1939).
365. Lerche W., Z. ind. Ab-Vererbungsl., 79, 538 (1941).
366. Levine R. P., Ives P. T., Proc. Natl. Acad. Sci., 39, 817 (1953).
367. Lewis D., Heredity, 1, 85 (1947).
368. Lewis D., Heredity, 2, 219 (1948).
369. Lewis E. B., Genetics, 30, 137 (1945).
370. Lewis E. B., личное сообщение.
371. Lewis E. B., Advances in Genet., 3, 73 (1950).
372. Lewis E. B., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 159 (1951).
373. Lewis E. B., Proc. Natl. Acad. Sci., 38, 953 (1952).
374. Lewis R. W., Am. J. Botany, 35, 292 (1948).
375. Lewitsky G., Ber. deut. botan. Ges., 29, 697 (1911).
376. L'Heritier P., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 99 (1951).
377. Lincoln R. E., Porter J. W., Genetics, 35, 206 (1950).
378. Lindahl P. E., Holter H., Compt. rend. trav. lab. Carlsberg, 23, 249 (1940).
379. Lindegren C. C., The Yeast Cell, Its Genetics and Cytology, Educational Publishers, St. Louis (1949).
380. Lindegren C. C., Lindegren G., Ann. Missouri Botan. Garden, 34, 95 (1947).
381. Lindstrom E. W., Genetics, 26, 387 (1941).
382. Little C. C., Genetics in the 20th Century (edited by Dunn L. C.), The Macmillan Co., New York (1951).
383. Luce W. M., Quastler H., Skaggs L. S., Am. J. Roentgenol. Radium Therapy, 62, 555 (1949).
384. Luria S. E., General Virology, John Wiley & Sons, New York (1953).
385. Luria S. E., Delbruck M., Genetics, 28, 491 (1943).
386. Lwoff A., Problems of Morphogenesis in Ciliates, John Wiley & Sons, New York (1950).
387. Lwoff A., Dusi H., C. R. soc. biol., 119, 1092 (1935).
388. McCarty M., Avery O. T., J. Exper. Med., 83, 89 (1946).
389. McClintock B., Genetics, 29, 478 (1944).
390. McClintock B., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 13 (1951).
391. McClintock B., Genetics, 38, 579 (1953).
392. McElroy W. D., Quart. Rev. Biol., 22, 25 (1947).
393. McElroy W. D., Swanson C. P., Quart. Rev. Biol., 26, 348 (1951).
394. McGibbon W. H., Genetics, 29, 407 (1944).
395. McGibbon W. H., Genetics, 30, 252 (1945).
396. Mackinney G., Jenkins J. A., Proc. Natl. Acad. Sci., 35, 284 (1949).
397. Mackinney G., Jenkins J. A., Proc. Natl. Acad. Sci., 38, 48 (1952).
398. Maas W. K., J. Biol. Chem., 198, 23 (1952).
399. Malone R. H., Dunsford I., Blood, 6, 1135 (1951).
400. Mampell K., Genetics, 31, 589 (1946).
401. Mandelstam J., Biochem. J., 51, 674 (1951).
402. Mangelsdorf P. C., Genetics, 32, 448 (1947).
403. Mangelsdorf P. C., Fraps G. S., Science, 73, 241 (1931).
404. Markert C. L., Genetics, 37, 603 (1952).
405. Markham R., Smith J. D., Biochem. J., 49, 401 (1951).

406. Mather K., *Biol. Revs.*, **18**, 32 (1943).
407. Mazia D., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **50**, 954 (1950).
408. Mazia D., Dan K., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **38**, 826 (1952).
409. Metz C. W., *Am. Naturalist*, **81**, 81 (1947).
410. Michaelis P., *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, **16**, 121 (1951).
411. Michaelis L., Menten M. L., *Biochem. Z.*, **49**, 333 (1913).
412. Michelson A. M., Drell M., Mitchell H. K., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **37**, 396 (1951).
413. Mickey G. H., *Genetica*, **21**, 386 (1939).
414. Mirsky A. E., *Genetics in the 20th Century* (edited by Dunn L. C.), p. 127, The Macmillan Co., New York (1951).
415. Mirsky A. E., Ris H., *Nature*, **163**, 666 (1949).
416. Mitchell H. K., *Vitamins and Hormones*, **8**, 127 (1950).
417. Mitchell H. K., *Symposium on Growth Factors, Sixth International Congress of Microbiology*, p. 75 (1953).
418. Mitchell H. K., Herizenberg L. A., *Methods in Enzymology* (edited by Colowick S. P. and Kaplan N. D.), Academic Press, New York (1954).
419. Mitchell H. K., Houlahan M. B., *Am. J. Bot.*, **33**, 31 (1946).
420. Mitchell H. K., Houlahan M. B., *Feder. Proc.*, **5**, 370 (1946).
421. Mitchell H. K., Houlahan M. B., *Feder. Proc.*, **6**, 506 (1947).
422. Mitchell H. K., Houlahan M. B., *J. Biol. Chem.*, **174**, 883 (1948).
423. Mitchell H. K., Lein J., *J. Biol. Chem.*, **175**, 481 (1948).
424. Mitchell M. B., Mitchell H. K., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **36**, 115 (1950).
425. Mitchell M. B., Mitchell H. K., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **38**, 205 (1952).
426. Mitchell M. B., Mitchell H. K., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **38**, 442 (1952).
427. Mitchell H. K., Nyc J. F., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **34**, 1 (1948).
428. Mitchell H. K., Houlahan M. B., Nyc J. F., *J. Biol. Chem.*, **172**, 525 (1948).
429. Mitchell M. B., Mitchell H. K., Tissieres A., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **39**, 606 (1953).
433. Monné L., *Arkiv Zool.*, **34B**, No. 2, 1 (1942).
434. Monod J., *Ann. Rev. Microbiol.*, **3**, 371 (1949).
435. Monod J., Cohn M., *Advances in Enzymol.*, **13**, 67 (1952).
436. Monod J., Torriani A., *Compt. rend. acad. sci.*, **227**, 240 (1948).
437. Moog F., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **55**, 57 (1952).
438. Morgan T. H., Bridges C. B., Schultz J., *Carnegie Year Book*, **36**, 301 (1937).
439. Morgan T. H., Bridges C. B., Sturtevant A. H., *Bibliogr. Genetica*, **2**, 262 (1925).
440. Morgan T. H., Sturtevant A. H., Muller H. J., Bridges C. B., *The Mechanism of Mendelian Heredity*, Henry Holt and Co. (1915).
441. Muller H. J., *Science*, **66**, 84 (1927).
442. Muller H. J., *Genetics*, **13**, 279 (1928).
443. Muller H. J., *Proc. Intern. Congr. Genet.*, 6th Congr., **1**, 213 (1932).
444. Muller H. J., *J. Hered.*, **26**, 469 (1935).
445. Muller H. J., *J. Genet.*, **40**, 1 (1940).
446. Muller H. J., *Genetics*, **31**, 55 (1946).
447. Muller H. J., *Proc. Roy. Soc., Sect. B*, **134**, 1 (1947).
448. Muller H. J., *J. Cellular Comp. Physiol.*, **35** (Suppl. 1), 9 (1950).
449. Muller H. J., *Evidence of the Precision of Genetic Adaptation*, Harvey Lectures Series 43, 1947-1948. Chas., Thomas C., Springfield, Ill. (1950).
450. Muller H. J., Altenburg E., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **17**, 10 (1919).
451. Muller H. J., Valencia J. I., Valencia R. M., *Genetics*, **35**, 125 (1950).
452. Neel J. V., *Genetics*, **27**, 519 (1942).
453. Neel J. V., *Science*, **110**, 64 (1949).
454. Newcomer E. H., *Bot. Rev.*, **6**, 85 (1940).
455. Newcomer E. H., *Bot. Rev.*, **17**, 53 (1951).
456. Newton W. C. F., *J. Genet.*, **21**, 389 (1929).
457. Northrop J. H., Kunitz M., Herriott R. M., *Crystalline Enzymes*, 2nd Edition, Columbia Univ. Press, New York (1948).
458. Novick A., Szilard L., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **36**, 708 (1950).

459. Nyc J. F., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **34**, 1 (1948).

460. Oliver

461. Oliver

462. Oliver

463. Oliver

464. Onslow

465. Onslow

466. Ottke

467. Owen

468. Painter

469. Panshi

470. Partrick (1952)

471. Pasche

472. Patters

473. Patters

474. Patters millan

475. Patters (1940)

476. Patters

477. Pauling

478. Pauling (1945)

479. Pauling 272, 3

480. Pauling (1951)

481. Pauling

482. Perkins

483. Philp

484. Phinne

485. Pipkin

486. Plough

487. Polliste

488. Pomper

489. Pomper

490. Pontec

491. Pontoc

492. Pophan

493. Potter

494. Poulson

495. Price J

496. Price J

497. Provasc Quant

498. Puck T

499. Race R

500. Race R

501. Rajewsk 488 (1

502. Рапопорт

503. Рапопорт

504. Рапопорт

505. Raut C

506. Raven C

507. Reed L

508. Regehr

509. Regnery

459. Nyc J. F., Mitchell H. K., Leifer E., Langham W. H., J. Biol. Chem., 179, 783 (1949).
460. Oliver C. P., Proc. Natl. Acad. Sci., 26, 452 (1940).
461. Oliver C. P., Genetics, 26, 163 (1941).
462. Oliver C. P., Univ. Texas Publ., 4720, 167 (1947).
463. Oliver C. P., Green M. M., Genetics, 29, 331 (1944).
464. Onslow M. W., Bassett H. L., Biochem. J., 7, 441 (1913).
465. Onslow M. W., Bassett H. L., J. Genet., 4, 109 (1914).
466. Ottke R. C., Simmonds S., Tatum E. L., J. Biol. Chem., 186, 581 (1950).
467. Owen R. D., Stormont C., Irwin M. R., Genetics, 32, 64 (1947).
468. Painter T. S., J. Hered., 25, 464 (1934).
469. Panshin I. B., Nature, 142, 837 (1938).
470. Partridge C. W. H., Bonner D. M., Yanofsky C., J. Biol. Chem., 194, 269 (1952).
471. Pascher A., Arch. Protistenk., 38, 1 (1917).
472. Patterson J. T., Biol. Bull., 61, 133 (1931).
473. Patterson J. T., Muller H. J., Genetics, 15, 495 (1930).
474. Patterson J. T., Stone W. S., Evolution in the Genus Drosophila, The Macmillan Co., New York (1952).
475. Patterson J. M., Brown M. S., Stone W. S., Univ. Texas Publ., 4032, 167 (1940).
476. Patterson J. T., Stone W. S., Bedichek S., Genetics, 22, 407 (1937).
477. Pauling L., J. Am. Chem. Soc., 62, 2643 (1940).
478. Pauling L., Nature of the Chemical Bond, Cornell Univ. Press, Ithaca, N. Y. (1945).
479. Pauling L., Corey R. B., Proc. Natl. Acad. Sci., 37, 235, 241, 251, 256, 261, 272, 282 (1951).
480. Pauling L., Corey R. B., Branson H. R., Proc. Natl. Acad. Sci., 37, 205 (1951).
481. Pauling L., Itano H. A., Singer S. J., Wells I. C., Science, 110, 543 (1949).
482. Perkins D. D., Genetics, 34, 607 (1949).
483. Philp J., J. Genet., 28, 175 (1933).
484. Phinney B. O., Genetics, 33, 624 (1948).
485. Pipkin S. B., Univ. Texas Publ., 4032, 126 (1940).
486. Plough H. H., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 9, 127 (1941).
487. Pollister A. W., J. Morphol., 49, 455 (1930).
488. Pomper S., Burkholder P. R., Proc. Natl. Acad. Sci., 35, 456 (1949).
489. Pomper S., Daniels K. M., McKee D. W., Genetics, 39, 343 (1954).
490. Pontecorvo G., Heredity, 4, 265 (1950).
491. Pontecorvo G., Advances in Genet., 5, 141 (1953).
492. Popham R. E., Am. J. Human Genet., 5, 73 (1953).
493. Potter V. R., J. Biol. Chem., 163, 437 (1946).
494. Poulson D. F., Am. Naturalist, 79, 340 (1945).
495. Price J. B., Univ. Texas Publ., No. 4920, 24 (1949).
496. Price J. R., J. Chem. Soc., 1939, 1017 (1939).
497. Provasoli L., Hunter S. H., Pintner I. J., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 113 (1951).
498. Puck T. D., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 18, 149 (1953).
499. Race R. R., Sanger R., Lawler S. D., Heredity, 2, 237 (1948).
500. Race R. R., Sanger R., Lehane D., Ann. Eugenics, 17, 255 (1953).
501. Rajewski B. N., Timofeeff-Ressovsky N. W., Z. ind. Ab.-Vererbungsst., 77, 488 (1939).
502. Рапопорт И. А., ДАН АН СССР, 27, 369 (1940).
503. Рапопорт И. А., Am. Naturalist, 81, 30 (1947).
504. Rapoport D., Canzanelli A., Science, 112, 469 (1950).
505. Raut C., Genetics, 35, 381 (1950).
506. Raven C. P., Bretschneider L. H., Arch. néerl. zool., 6, 255 (1942).
507. Reed L. J., DeBusk B. G., J. Am. Chem. Soc., 74, 3457 (1952).
508. Regehr H., Arnasow T. J., Johns H. E., Nature, 166, 228 (1950).
509. Regnery D. C., J. Biol. Chem., 154, 151 (1944).

510. Rendel J. M., *Am. Naturalist*, **87**, 129 (1953).
511. Renner O., *Flora*, **130**, 218 (1936).
512. Rhoades M. M., *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, **9**, 138 (1941).
513. Rhoades M. M., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **31**, 91 (1945).
514. Rhoades M. M., *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, **11**, 202 (1946).
515. Remington C., *Biochem. Soc. Symposia (Cambridge, Engl.)*, No. 4, 16 (1950).
516. Ris H., Mirsky A. E., *J. Gen. Physiol.*, **32**, 489 (1949).
517. Robertson G. G., *J. Exper. Zool.*, **89**, 197 (1942).
518. Robinson R., *Nature*, **137**, 172 (1936).
519. Robinson G. M., Robinson R., *J. Chem. Soc.*, **1935**, 744 (1935).
520. Roman H., Hawthorne D. C., Douglas H. C., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **37**, 79 (1951).
521. Rose S. M., *Am. Naturalist*, **86**, 337 (1952).
522. Rudman D., Meister A., *J. Biol. Chem.*, **200**, 591 (1953).
523. Rudnick D., *J. Exper. Zool.*, **100**, 1 (1945).
524. Russell E. S., *Genetics*, **24**, 332 (1939).
525. Russell E. S., *Genetics*, **33**, 228 (1948).
526. Russell E. S., *Genetics*, **34**, 133 (1949).
527. Russell E. S., *Genetics*, **34**, 146 (1949).
528. Russell L. B., Russell W. L., *Genetics*, **33**, 237 (1948).
529. Russell W. L., *Genetics*, **24**, 645 (1939).
530. Ryan F. J., *Feder. Proc.*, **5**, 366 (1946).
531. Ryan F. J., Brand E., *J. Biol. Chem.*, **154**, 161 (1944).
532. Ryan F. J., Schneider L. K., *J. Bact.*, **56**, 699 (1948).
533. Ryan F. J., Schneider L. K., *J. Bact.*, **58**, 201 (1949).
534. Ryan F. J., Kunin C., Ballentine R., Maas W., *J. Bacteriol.*, **65**, 434 (1953).
535. Sando C. E., Milner R. T., Sherman M. S., *J. Biol. Chem.*, **109**, 203 (1935).
536. Sanger R., Race R. R., *Am. J. Human Genetics*, **3**, 332 (1951).
537. Satina S., Blakeslee A. F., Avery A. G., *J. Hered.*, **28**, 193 (1937).
538. Sawin P. B., Glick D., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **29**, 55 (1943).
539. Sax K., *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, **9**, 93 (1941).
540. Sax K., *J. Cellular Comp., Physiol.*, **35**, Suppl. 1, 71 (1950).
541. Sax K., Enzmann E. V., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **25**, 397 (1939).
542. Schneider W. C., *J. Biol. Chem.*, **165**, 585 (1946).
543. Schneider W. C., *J. Biol. Chem.*, **176**, 259 (1948).
544. Schneider W. C., Hogeboom G. H., *Cancer Research*, **11**, 1 (1951).
545. Schneider W. C., Potter V. R., *J. Biol. Chem.*, **177**, 893 (1949).
546. Schneider W. C., Hogeboom G. H., Ross H. E., *J. Natl. Cancer Inst.*, **10**, 977 (1950).
547. Schoenheimer R. (1942), Edward K. Dunham Lectures, Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass (1941).
548. Schrödinger E., *What is Life?*, Cambridge Univ. Press (1945).
549. Schultz J., *Am. Naturalist*, **49**, 30 (1935).
550. Schultz J., *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, **12**, 179 (1947).
551. Schultz J., Bridges C. B., *Am. Naturalist*, **66**, 323 (1932).
552. Schultz J., Casperson T., Aquilonius L., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **26**, 515 (1940).
553. Schwartz D., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **38**, 490 (1952).
554. Scott-Moncrieff R., *J. Genet.*, **32**, 117 (1936).
555. Sears E. R., *Advances in Genet.*, **2**, 239 (1948).
556. Seidel F., *Arch. Entwicklungsmech. Organ*, **123**, 213 (1932).
557. Серебровский А. С., *J. Genet.*, **18**, 137 (1927).
558. Serra J. A., *Cold Spring Harbor Symposium Quant. Biol.*, **12**, 192 (1947).
559. Sevag M. G., Gotz J. S., *J. Bact.*, **56**, 734 (1948).
560. Shive W. A., Ackermann W. W., Gordon M., Getzendaner M. E., Eakin R. E., *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 725 (1947).
561. Schultz F. T., Briles W. E., *Genetics*, **38**, 34 (1953).
562. Silow R. A., *J. Genet.*, **38**, 229 (1939).
563. Silow R. A., *J. Genet.*, **47**, 213 (1946).
564. Simonsen D. H., Van Wagendonk W. J., *Biochim. et Biophys. Acta*, **9**, 515 (1952).

565. Sinn
H
566. Sins
567. Sleir
568. Slon
569. Smi
570. Smi
571. Son
572. Son
573. Son
574. Son
575. Son
Th
576. Son
577. Spar
578. Sper
Ne
579. Sper
580. Sper
581. Spie
582. Spie
583. Spie
584. Spie
Sy
585. Spie
12
586. Spra
587. Spra
588. Spri
589. Srb
590. Srb
591. Srb
592. Srb
593. Stad
tio
594. Stad
595. Stad
596. Stad
597. Stad
598. Step
599. Step
600. Step
601. Step
602. Step
603. Ster
604. Ster
605. Ster
606. Ster
607. Ster
cis
608. Ster
609. Ster
559
610. Stett
611. Stoc
612. Stod
613. Ston
614. Ston
615. Ston
(19

565. Sinnott E. D., Dunn L. C., Dobzhansky Th., Principles of Genetics, McGraw-Hill Book Co., New York (1950).
566. Sinsheimer R. L., Koerner J. F., J. Am. Chem. Soc., 74, 283 (1952).
567. Stein M. W., Cori G. T., Cori C. F., J. Biol. Chem., 186, 763 (1950).
568. Slonimski P. P., Ephrussi B., Ann. Inst. Pasteur, 77, 47, 774 (1949).
569. Smith H. H., Genetics, 28, 227 (1943).
570. Smith J. D., Wyatt G. R., Biochem. J., 49, 144 (1951).
571. Sonneborn T. M., Am. Naturalist, 73, 390 (1939).
572. Sonneborn T. M., Proc. Natl. Acad. Sci., 34, 413 (1948).
573. Sonneborn T. M., Heredity, 4, 11 (1950).
574. Sonneborn T. M., J. Exper. Zool., 113, 87 (1950).
575. Sonneborn T. M., cm. Genetics in the 20th Century (edited by L. C. Dunn), The Macmillan Co., New York (1951).
576. Sonneborn T. M., LeSuer A., Am. Naturalist, 82, 69 (1948).
577. Sparrow A. H., Ann. N. Y. Acad. Sci., 51, 1508 (1951).
578. Spemann H., Embryonic Development and Induction, Yale Univ. Press, New Haven (1938).
579. Spencer W. P., Genetics, 29, 520 (1944).
580. Spencer W. P., Stern C., Genetics, 33, 43 (1948).
581. Spiegelman S., Symposia Soc. Exper. Biol., 2, 286 (1948).
582. Spiegelman S., Quart. Rev., 20, 121 (1945).
583. Spiegelman S., Dunn R., J. Gen. Physiol., 31, 153 (1947).
584. Spiegelman S., Halvorson H. O., cm. Adaptation in Microorganisms, Third Symp. Soc. Gen. Microbiol, Cambridge Univ. Press (1953), (русский перевод).
585. Spiegelman S., Kamen M. D., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 12, 211 (1947).
586. Spratt N., J. Exptl. Zool., 114, 375 (1950).
587. Spratt N., Biol. Bull., 99, 120 (1950).
588. Sprinson D. B., Rittenberg D., J. Biol. Chem., 184, 405 (1950).
589. Srb A. M., Arch. Biochem., 23, 495 (1949).
590. Srb A. M., Botan. Gaz., 111, 470 (1950).
591. Srb A. M., Horowitz N. H., J. Biol. Chem., 154, 129 (1944).
592. Srb A. M., Fincham J. R. S., Bonner D., Am. J. Botany, 37, 533 (1950).
593. Stadler L. J., Some Observations on Gene Variability and Spontaneous Mutation, Spragg Memorial Lectures (3rd Series), Michigan State College (1942).
594. Stadler L. J., Genetics, 31, 377 (1946).
595. Stadler L. J., Am. Naturalist, 82, 289 (1948).
596. Stadler L. J., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 49 (1951).
597. Stadler L. J., Roman H., Genetics, 33, 273 (1948).
598. Stephens S. G., Advances in Genet., 1, 431 (1947).
599. Stephens S. G., Genetics, 33, 191 (1948).
600. Stephens S. G., Arch. Biochem., 18, 449 (1948).
601. Stephens S. G., Advances in Genet., 4, 247 (1951).
602. Stephens S. G., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 16, 131 (1951).
603. Stern C., Biol. Zentr., 49, 261 (1929).
604. Stern C., Handb. d. Vererbungswissenschaft, 1, 1 (1930).
605. Stern C., Genetics, 28, 441 (1943).
606. Stern C., Science, 108, 615 (1948).
607. Stern C., Principles of Human Genetics, W. H. Freeman and Co., San Francisco, Calif. (1949).
608. Stern C., Schaeffer E. W., Proc. Natl. Acad. Sci., 29, 351 (1943).
609. Stern H., Allfrey V., Mirsky A. E., Saetren H., J. Gen. Physiol., 35, 529, 559 (1952).
610. Stetten D., Jr., J. Biol. Chem., 144, 501 (1942).
611. Stocker B. A. D., Zinder N. D., Lederberg J., J. Gen. Microbiol., 9, 410 (1953).
612. Stodola F. H., Lockwood L. B., J. Biol. Chem., 171, 213 (1947).
613. Stone W. S., Univ. Texas Publ., No. 4228, 146 (1942).
614. Stone W. S., Wyss O., Haas F., Proc. Natl. Acad. Sci., 33, 59 (1947).
615. Stone W. S., Haas F., Clark J. B., Wyss O., Proc. Natl. Acad. Sci., 34, 142 (1948).

616. Stormont C., Genetics, 35, 76 (1950).
617. Stormont C., Owen R. D., Irwin M. R., Genetics, 36, 134 (1951).
618. Straus O. H., Goldstein A., J. Gen. Physiol., 26, 559 (1943).
619. Strauss B. S., Arch. Biochem., 30, 292 (1951).
620. Strauss B. S., J. Am. Chem. Soc., 75, 1012 (1953).
621. Strauss B. S., Pierog S., J. Gen. Microbiol., 10, 221 (1954).
622. Strehler B. L., J. Bact., 59, 105 (1950).
623. Stubbe H., Biol. Zentr., 55, 209 (1935).
624. Stubbe H., Z. ind. Ab.-Vererbungsl., 70, 533 (1935).
625. Sturtevant A. H., Genetics, 10, 117 (1925).
626. Sturtevant A. H., Genetics, 30, 297 (1945).
627. Sturtevant A. H., cm. Genetics in the 20 th Century (edited by L. C. Dunn), The Macmillan Co., New York (1951).
628. Sturtevant A. H., Dobzhansky Th., Am. Naturalist, 70, 574 (1936).
629. Sturtevant A. H., Novitski E., Genetics, 26, 517 (1941).
630. Sumner J. B., Myrbäck K., The Enzymes, Academic Press, New York (1951).
631. Swanson C. P., Jost H. T., Genetics, 36, 579 (1951).
632. Swertzev-Dobzhansky N. P., Dobzhansky Th., Genetics, 18, 173 (1933).
633. Tatum E. L., Ann. Rev. Biochem., 13, 667 (1944).
634. Tatum E. L., J. Biol. Chem., 160, 455 (1945).
635. Tatum E. L., Bell T. T., Am. J. Botany, 33, 15 (1946).
636. Tatum E. L., Beadle G. W., Biol. Bull., 77, 415 (1939).
637. Tatum E. L., Beadle G. W., Proc. Natl. Acad. Sci., 28, 234 (1942).
638. Tatum E. L., Bonner D., Proc. Natl. Acad. Sci., 30, 30 (1944).
639. Tatum E. L., Haagen-Smit A. J., J. Biol. Chem., 140, 575 (1941).
640. Tatum E. L., Baratt R. W., Cutler V. M., Jr., Science, 109, 509 (1949).
641. Tatum E. L., Bonner D., Beadle G. W., Arch. Biochem., 3, 477 (1944).
642. Teas H. J., Genetics, 33, 632 (1948).
643. Teas H. J., Proc. Natl. Acad. Sci., 38, 817 (1952).
644. Teas H. J., Anderson E. G., Proc. Natl. Acad. Sci., 37, 645 (1951).
645. Teas H. J., Newton A. C., Plant Physiol., 26, 494 (1951).
646. Teas H. J., Horowitz N. H., Fling M., J. Biol. Chem., 172, 651 (1948).
647. Thoday J. M., J. Genet., 43, 189 (1942).
648. Thoday J. M., Read J., Nature, 160, 608 (1947).
649. Thompson R. C., Isbell E. R., Mitchell H. K., J. Biol. Chem., 148, 281 (1943).
650. Timofeeff-Ressovsky N. W., Z. ind. Ab.-Vererbungsl., 70, 125 (1935).
651. Timofeeff-Ressovsky N. W., Zimmer K. G., Strahlentherapie, 53, 134 (1935).
652. Timofeeff-Ressovsky N. W., Zimmer K. G., Naturwissenschaften, 26, 362 (1938).
653. Tint H., Reiss W., J. Biol. Chem., 182, 385 (1950).
654. Tissieres A., Mitchell H. K., J. Biol. Chem., 208, 241 (1954).
655. Tissieres A., Mitchell H. K., Haskins F. A., J. Biol. Chem., 205, 423 (1953).
656. Tomes M. L., Quackenbush F. W., Nelson O. E., North B., Genetics, 38, 117 (1953).
657. Trimble H. C., Keeler C. E., J. Hered., 29, 281 (1938).
658. Tyler A., Growth, 10, (Suppl.), 7 (1947).
659. Umbarger H. E., Adelberg E. A., J. Biol. Chem., 192, 883 (1951).
660. Umbreit W. W., Wood W. A., Gunsalus I. C., J. Biol. Chem., 165, 731 (1946).
661. Van Beneden E., Neyt A., Bull. acad. roy. Belg., 3, 14, 215 (1887).
662. Vendrely R., Vendrely C., Experientia, 4, 434 (1948).
663. Villee C. A., Genetics, 32, 277 (1947).
664. Vogel H. J., Davis B. D., Mingioli E. S., J. Am. Chem. Soc., 73, 1897 (1951).
665. Volcani B. E., Snell E. E., J. Biol. Chem., 174, 803 (1948).
666. von Euler H., Arkiv Kemi Mineral Geol., 24A, 13 (1946).
667. von Euler H., Runchjelm D., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., 185, 74 (1929).
668. Waddington C. H., Symposia Soc. Exper. Biol., 2, 145 (1948).
669. Waddington C. H., Epigenetics of Birds, Cambridge Univ. Press (1952).
670. Wagner R. P., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
671. Wagner R. P., Univ. Texas Publ., No. 4920, 39 (1949).

672. Wagner R. P., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
673. Wagner R. P., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
674. Wagner R. P., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
675. Wagner R. P., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
676. Walker R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
677. Ward R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
678. Watson R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
679. Weit R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
680. Weier R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
681. Weiss R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
682. Weiss R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
683. Weiss R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
684. Weiss R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
685. Westerg R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
686. Whiting R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
687. Whiting R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
688. Wiener R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
689. Wiener R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
690. William R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
691. William R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
692. William R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
693. Wilson R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
694. Wilson R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
695. Wilson R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
696. Wilson R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
697. Wilson R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
698. Winge R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
699. Wit F. R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
700. Witkin R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
701. Woltere R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
702. Woods R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
703. Woods R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
704. Woodwa R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
705. Wright R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
706. Wright R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
707. Wright R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
708. Wright R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
709. Wright R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
710. Wright R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
711. Wright R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
712. Wright R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
713. Wright R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
714. Wyss O. R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
715. Yanofsk R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
716. Yanofsk R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
717. Yanofsk R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
718. Yanofsk R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
719. Yuasa A. R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
720. Zalokar R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
721. Zamenof R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).
722. Zechmeis R. M., Univ. Texas Publ., No. 4445, 104 (1944).

672. Wagner R. P., Proc. Natl. Acad. Sci., 35, 185 (1949).
673. Wagner R. P., Guirard B. M., Proc. Natl. Acad. Sci., 34, 398 (1948).
674. Wagner R. P., Haddox C. H., Am. Naturalist, 85, 319 (1951).
675. Wagner R. P., Haddox C. H., Fuerst R., Stone W. S., Genetics, 35, 237 (1950).
676. Walker J. C., Genetics in the 20th Century (edited by L. C. Dunn), The Macmillan Co., New York (1951).
677. Ward F. D., Genetics, 20, 230 (1935).
678. Watson J. D., Crick F. H. C., Nature, 171, 737 (1953).
679. Weil A. J., Binder M., Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 66, 349 (1947).
680. Weier T. E., Stocking C. R., Botan. Rev., 18, 14 (1952).
681. Weiss J., Nature, 153, 748 (1944).
682. Weiss P., Yale J. Biol. and Med., 19, 235 (1947).
683. Weiss P., Quart. Rev. Biol., 25, 177 (1950).
684. Weiss V., Davis B. D., Mingioli E. S., J. Am. Chem. Soc., 75, 5572 (1953).
685. Westergaard M., Mitchell H. K., Am. J. Botany, 34, 573 (1947).
686. Whiting P. W., J. Hered., 26, 263 (1935).
687. Whiting P. W., Evolution, 8, 135 (1954).
688. Wiener A. S., Blood Groups and Transfusion, 3rd Rev. ed., Chas. C Thomas, Springfield, Ill (1943).
689. Wiener A. S., Sonn-Gordon E. B., Handman L., J. Immunol., 57, 203 (1947).
690. Williams R. J., Nutrition and Alcoholism, Univ. Oklahoma Press, Norman (1951).
691. Williams R. J., Univ. Texas Publ., 5109, 7 (1951).
692. Williamson M. B., Gulick A., J. Cellular Comp. Physiol., 23, 77 (1944).
693. Wilson E. B., The Cell in Development and Inheritance, The Macmillan Co., New York (1896).
694. Wilson E. B., The Cell in Development and Heredity, The Macmillan Co., New York (1925).
695. Wilson E. B., J. Morphol., 52, 429 (1931).
696. Wilson G. B., Tsou T., Hyypio P., J. Hered., 43, 211 (1952).
697. Wilson P. W., Respiratory Enzymes (edited by H. J. Lardy), Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minnesota (1950).
698. Winge O., C. R. trav. lab. Carlsberg, 21, 1 (1934).
699. Wit F., Genetica, 19, 1 (1937).
700. Witkin E. M., Proc. Natl. Acad. Sci., 39, 427 (1953).
701. Woltereck R., Verhandl. deut. Zool. Ges., 1911 (1911).
702. Woods D. D., Brit. J. Exptl. Pathol., 21, 74 (1940).
703. Woods D. D., Fildes P., J. Soc. Chem. Ind., 59, 133 (1940).
704. Woodward V. W., DeZeeuw, J. R., Srb A. M., Proc. Natl. Acad. Sci., 40, 192 (1954).
705. Wright B. E., Arch. Biochem. a. Biophys., 31, 332 (1951).
706. Wright L. D., Huff J. W., Skeggs H. R., Valentik K. A., Bosshardt D. K., J. Am. Chem. Soc., 72, 2312 (1950).
707. Wright S., Carnegie Inst., Washington Publ., No. 241 (1916).
708. Wright S., Am. Naturalist, 68, 25 (1934).
709. Wright S., Proc. Intern. Congr. Gen., 7th Congr., p. 319 (1941), (1939).
710. Wright S., Physiol. Rev., 21, 487 (1941).
711. Wright S., Am. Naturalist, 79, 289 (1945).
712. Wright S., Genetics, 34, 245 (1949).
713. Wright S., Braddock Z. I., Genetics, 34, 223 (1949).
714. Wyss O., Clark J. B., Haas F., Stone W. S., J. Bact., 54, 767 (1948).
715. Yanofsky C., Proc. Natl. Acad. Sci., 38, 215 (1952).
716. Yanofsky C., J. Biol. Chem., 194, 279 (1952).
717. Yanofsky C., Bonner D. M., Proc. Natl. Acad. Sci., 36, 167 (1950).
718. Yanofsky C., Bonner D. M., J. Biol. Chem., 190, 211 (1951).
719. Yuasa A., Botan. Mag. (Tokyo), 49, 868 (1935).
720. Zalokar M., J. Bact., 60, 191 (1950).
721. Zamenoff S., Genetics, 30, 28 (1945).
722. Zechmeister L., Went F. W., Nature, 162, 847 (1948).

723. Zimmer G. K., Timofeeff-Ressovsky N. W., Z. ind. Ab.-Vererbungsl., 80, 353 (1942).
724. Zinder N. D., Lederberg J., J. Bact., 64, 679 (1952).
725. Зуйтин А. И., ДАН АН СССР, 30, 61 (1941).
726. Zwillig E., J. Exper. Zool., 99, 79 (1945).
727. Barth L. G., Embryology. The Dryden Press, New York (1953).
728. Braun W., Bacterial Genetics, Saunders W. B., Philadelphia (1953).
729. Catchesida D. G., Genetics of Microorganisms, Pitman, London (1951).
730. Dunn L. C., Genetics in the 20th Century. The Macmillan Co., New York (1951).
731. Ephrussi B., Beadle G. W., Genetics, 22, 479 (1937).
732. Fruton J. S., Simmonds S., General Biochemistry, John Wiley & Sons, New York (1953).
733. Galston A. W., Plant Physiol., 24, 577 (1940).
734. Goldschmidt R., Understanding Heredity, John Wiley & Sons, New York (1952).
735. Hannah A., Advances in Genet., 4, 87 (1951).
736. Maas W. K., Davis B. D., Proc. Natl. Acad. Sci., 38, 785 (1952).
737. Michaelis P., Z. ind. Ab.-Vererbungsl., 78, 187 (1940).
738. Neel J. V., Falls H. F., Science, 114, 419 (1951).
739. Olenov J. M., Am. Naturalist, 75, 580 (1941).
740. Ross H., Z. ind. Ab.-Vererbungsl., 82, 187 (1948).
741. Runnström J., Wilhelm Roux Arch. Entwicklungsmech. Organ, 129, 442 (1933).
742. Shriner R. L., Moffett R. B., J. Am. Chem. Soc., 63, 1694 (1941).
743. Srb. A. M., Owen R. D., General Genetics, Freeman W. H. and Co., San Francisco, Calif. (1952).
744. Stadler L. J., Uber F. M., Genetics, 27, 84 (1942).
745. Timofeeff-Rossovsky N. W., Zimmer K. G., Biophysik., 1, 1 (1947).
746. Wettstein F. von, Bibliographia genetica, 10, 1 (1928).
747. Wortman B., Wagner R. P., Texas J. Sci., 5, 34 (1953).
748. Zinder N. D., Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 18, 261 (1953).
749. McCauley A. L., Ford J. M., Heredity, 1, 247 (1947).

Предисловие
Предисловие

Глава I. Введение

Механика

Механика

Менделев

Сцепление

Переко

Некоторые

По

Ге

Си

К

Жизне

Некот

Глава II.

Общие

Ядро

X

X

X

Цитоп

Глава III.

Опред

О

Т

Г

Часто

М

С

Генет

Физи

Т

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие к русскому изданию	5
Предисловие авторов	9
Глава I. Введение в понятие гена	11
Механизм митоза	12
Механизм мейоза	16
Менделизм	20
Сцепление и перекрест	21
Перекомбинации вообще	23
Некоторые определения и символы	23
Полиплоидия	24
Гены и аллели генов	24
Символы	25
Концепция гена	25
Жизненный цикл	29
Некоторые литературные источники общего характера	31
Глава II. Некоторые данные о структуре и функции клетки	31
Общие свойства клеток	34
Ядро	35
Химический состав ядра в целом	40
Химический состав компонентов ядра	42
Химические изменения в период ядерного цикла	43
Цитоплазма и ядро	46
Глава III. Мутации	46
Определение мутации	47
Обнаружение мутаций	48
Типы мутаций	51
Генные и хромосомные мутации	52
Частота мутаций	53
Мутации и фактор времени	55
Спонтанные мутации	56
Генетические факторы, влияющие на частоту спонтанных мутаций ...	59
Физические и химические факторы, влияющие на частоту мутаций ...	59
Температура	59

Излучения	61
Гипотеза мишени	67
Химические мутагены	70
Влияние внешних факторов на действие мутагенов	73
Трансформация у бактерий	76
Общие соображения о природе мутаций и генетического материала ...	78
Глава IV. Наследственные химические различия	82
Антоцианы и антоксантины у растений	83
Химия	83
Наследование	85
Каротиноиды и их производные в растениях	93
Вещества, присутствующие в эндосперме кукурузы	97
Белки и другие вещества с антигенными свойствами	99
Общие выводы относительно влияния мутаций и числа определенных генов на химический состав организма	105
Глава V. Наследование потребностей в питательных веществах	107
Методы получения и выявления мутантов с измененным питанием ...	108
Типы мутантов с измененным питанием	113
Общие замечания	120
Глава VI. Некоторые проблемы биохимии	121
Скорости реакций	122
Некоторые свойства ферментов	122
Определение скоростей реакций	124
Подавление действия ферментов и ингибиторы	129
Кинетика подавления	130
Ферментативные комплексы	132
Динамическое состояние	137
Проницаемость мембран	138
Метаболический фонд	139
Кругооборот веществ в клеточном ядре	140
Биохимические реакции	143
Энергетика биохимических реакций	144
Сопряженные реакции	145
Синтезы макроэргических фосфатных связей	148
О природе биохимических реакций	150
Глава VII. Мутации и факторы, контролирующие обмен веществ	155
Макромолекулы	157
Изменчивость видовых макромолекул	160
Биологический синтез макромолекул	163
Мутации и отдельные ферменты	163
Ферментативное расщепление гомогентизиновой кислоты у человека	172
Некоторые алкалоидные эстеразы в животных тканях	173
Синтез триптофана у <i>Neurospora</i>	175

Линам
Синте
Выде
Идио
Актив
Флав
Брод
Некоторы
Глава VIII. П
Аминокис
Аром
Серни
Гисти
Арги
Лизи
Лейц
Разн
Нуклеино
Пури
Пири
Липиды
Жири
Каро
Порф
Витамины
Глазной
Бурь
Гомо
Генетичес
Некоторы
Глава IX. Ал
Фенотипи
Доминиро
Изоаллел
Псевдоал
Пересмот
Глава X. Вза
Признак
Допо
Дупл
Ген
О модиф
Группы
опре
Разли
Генный
Модифик

Линамаразы у белого клевера	179
Синтез пантотеновой кислоты	180
Выделение мочевой кислоты у далматской собаки	183
Идиопатическая метгемоглобинемия у человека	186
Активность каталазы у высших растений	187
Флавопротеин и резистентность к ядам у пневмококков	188
Бродильные ферменты	191
Некоторые общие выводы	195
Глава VIII. Пути обмена веществ	197
Аминокислоты	202
Ароматические аминокислоты и родственные им соединения	202
Серные аминокислоты и треонин	205
Гистидин	206
Аргинин и пролин	209
Лизин	210
Лейцин, изолейцин и валин	212
Разные аминокислоты	213
Нуклеиновые кислоты	214
Пурины нуклеиновых кислот	214
Пиримидины нуклеиновых кислот	216
Липиды и пигменты	217
Жирные кислоты	218
Каротиноиды	218
Порфирины	218
Витамины группы В	220
Глазной пигмент насекомых	221
Бурый пигмент у <i>Drosophila melanogaster</i>	224
Гомологи с другими видами насекомых	225
Генетическое блокирование	230
Некоторые общие выводы	232
Глава IX. Аллелизм, взаимодействие аллелей и псевдоаллелизм	233
Фенотипический эффект замены одного аллеля	241
Доминирование	244
Изоаллели	247
Псевдоаллелизм	256
Пересмотр некоторых определений	259
Глава X. Взаимодействие неаллельных генов	262
Признаки, обусловленные двумя генами	262
Дополнительные (комплементарные) гены	264
Дубликатные гены	266
Гены-супрессоры	271
О модификаторах вообще	276
Группы взаимодействующих генов, оказывающих сильное влияние на определенные признаки	280
Различия в меланиновых пигментах у морских свинок	285
Генный баланс	290
Модификаторы проявления аллелей и взаимодействия	

Глава XI. Изменения фенотипа под влиянием внешних факторов	293
Превращение «нормального» фенотипа в «мутантный»	293
Аллели, «чувствительные» к температуре	295
Трансформация серотипов у <i>Paramecium aurelia</i>	299
Период чувствительности к температуре	302
Генотип, как норма реакции	305
Наследственная и ненаследственная адаптации и методы их различения	306
Ферментативная адаптация	309
Выводы	313
Глава XII. Преемственность клеточной организации	314
Субъединицы клетки и их преемственность	314
Удвоение генов	317
Удвоение компонентов цитоплазмы	318
Критерии доказательства генетической преемственности частиц или субъединиц	321
Внехромосомная наследственность	323
Примеры цитоплазматической наследственности	324
О механизме внехромосомного наследования	333
Индукция признаков, наследуемых через цитоплазму	342
Глава XIII. Проблема механизма развития	344
Некоторые стороны развития	345
Проявления дифференцировки	345
Свойства ядер во время развития	350
Установление различий на ранних стадиях развития	352
Химические явления, сопровождающие морфологические изменения или предшествующие им	361
Влияние одной части на другую	365
Организация и рост	373
Роль генотипа	378
Влияние генных мутаций на развитие	379
Трансплантации между животными с разными генотипами	383
Глава XIV. Генетика, развитие, питание и заболевание	387
Наследственные аномалии	388
Некоторые летальные мутанты дрозофилы	390
Некоторые наследственные аномалии у мышей	391
Наследственные аномалии человека	394
Наследственность и питание	398
Симбиоз и неспособность к совместному существованию	399
Бактериальные вирусы	400
Генетические факторы и инфекция у высших организмов	403
Некоторые общие соображения	406
Литература	408

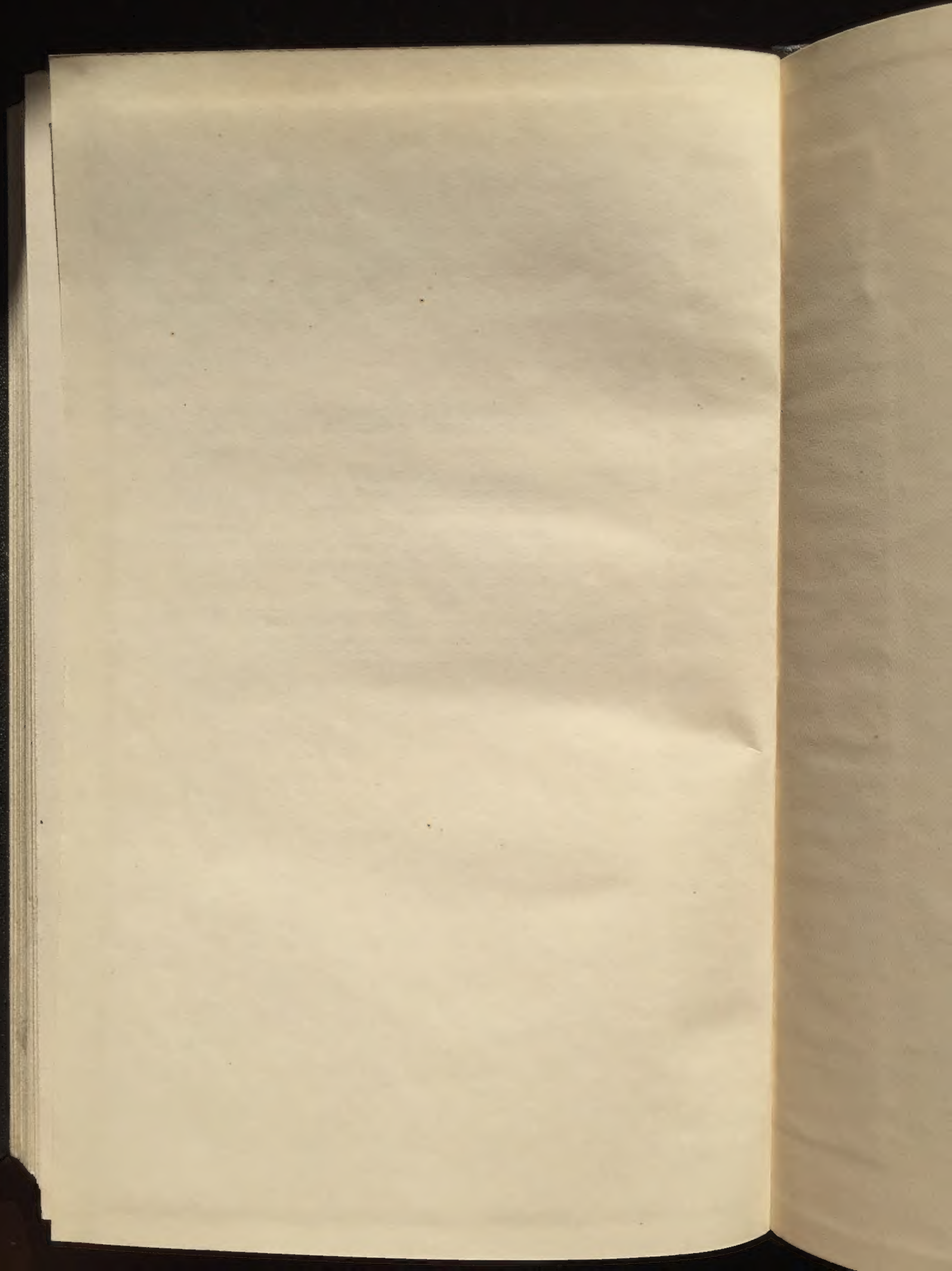
Р. Вагнер и Г. Митчелл
ГЕНЕТИКА И ОБМЕН ВЕЩЕСТВ

Редактор Н. А. СЫСИНА
Художник Д. С. Громан
Технический редактор А. Н. Никифорова

Сдано в производство 30. V. 1957 г.
Подписано к печати 13. XI. 1957 г.
Бумага 60×92¹/₁₆ = 13,4 бум. л. 26,8 печ. л.
Уч.-изд. л. 27,4. Изд. № 4/3273
Цена 21 р. 20 к. Зак. 181.

ИЗДАТЕЛЬСТВО ИНОСТРАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ
Москва, Ново-Алексеевская, 52.

Типография Академии Будапешт



21 x 26 mm

THE
FIFTH
VOLUME
OF
THE
BIBLICAL
RECORDS

OF
THE
BIBLICAL
RECORDS
OF
THE
BIBLICAL
RECORDS